

Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Leiter: Prof. Dr. R. Schulz

und

Aus der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung
München-Neuherberg

Abteilung für Physiologie
Leiter: Prof. Dr. H. Müller-Mohnssen

Institut für Strahlenbiologie
Leiter: Prof. Dr. Dr. U. Hagen

Angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. K. Tempel und Prof. Dr. A. Petter

ZU DEN AKUTEN UND CHRONISCHEN MOTORISCHEN REAKTIONEN
DES M. DETRUSOR VESICAE URINARIAE DER RATTE
NACH RÖNTGENSTRAHLENEXPOSITION

- Erfassung von Basaltonus, phasischer Aktivität sowie
cholinерger und adrenerger Ansprechbarkeit -

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Johann Hölzl
aus Birnbach

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker
Referent: Prof. Dr. K. Tempel
Korreferent: Prof. Dr. M. Merckenschlager

Tag der Promotion: 25. Juli 1986

DISSERTATIONS- UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

Meinen Eltern

und Britta

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. <u>PROBLEMSTELLUNG</u>	1
II. <u>EINLEITUNG</u>	2
1. Zur Morphologie der Harnblase	2
1.1. Aufbau der Harnblase	2
1.2. Gefäß- und Lymphversorgung der Harnblase	3
1.3. Innervation der Harnblase	3
1.3.1. Präganglionäre Neurone	4
1.3.2. Plexus vesicalis	5
1.3.3. Postganglionäre Neurone	5
1.3.4. Zur vegetativen Innervation der Rattenblase	6
2. Zur Physiologie der Harnblase	6
2.1. Harnblasenfunktion	6
2.2. Elektrophysiologie	7
3. Zur Pharmakologie der Harnblase	8
4. Zur Wirkung ionisierender Strahlen auf die ableitenden Harnwege	10
4.1. Allgemeine Feststellungen	10
4.2. Funktionsstörungen nach gynäkologischer und urologischer Strahlentherapie	11
4.3. Modelle zur Erfassung somatischer Strahleneffekte am Harntrakt	12
III. <u>METHODIK</u>	15
1.1. Versuchsdurchführung	15
1.2. Nährlösungen und Pharmaka	15
1.3. Präparation des Detrusors	16
1.4. Erfassung der mechanischen Spontanaktivität	17
2. Vorbehandlung der Versuchstiere	18
2.1. Bestrahlung isolierter Präparate des M. detrusor in vitro	18
2.2. Lokale Bestrahlung der Harnblase in vivo	19
2.3. Vorbehandlung mit spezifischen Rezeptorantagonisten	21
3. Versuchsbedingungen und -ablauf	21
4. Auswertung mit statistischer Beurteilung der Ergebnisse	22

IV.	<u>ERGEBNISSE</u>	24
1.	Allgemeine methodische Versuche	24
1.1.	Wahl des Detrusorabschnittes	24
1.2.	Auswirkungen von schädigenden Einflüssen auf die mechanische Aktivität des isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte	26
1.3.	Zur Wirkung von Ascorbinsäure auf die mechanische Aktivität des isolierten M. detrusor	28
2.	Spezielle methodische Versuche: Cholinerge und adrenerge Ansprechbarkeit des isolierten M. detrusor der Ratte	30
2.1.	Zur Wirkung von Acetylcholin (cholinerge Reaktion) am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley- und Wistar-Ratte	30
2.2.	Adrenerge Reaktion	33
2.2.1.	Zur Wirkung von Adrenalin am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte	33
2.2.2.	Zur Wirkung von Adrenalin am isolierten M. detrusor der Wistar-Ratte	35
2.3.	Zum Einfluß spezifischer Rezeptor-Antagonisten auf den isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte	37
2.3.1.	Atropin	37
2.3.2.	Phentolamin	40
2.3.3.	Phentolamin - M. detrusor der Wistar-Ratte	42
2.3.4.	Propranolol - M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte	44
3.	Akute strahleninduzierte Reaktion am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte	46
3.1.	Sofortreaktion des M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte bei wiederholter Exposition in Abhängigkeit von Strahlendosis und Dosisleistung	52
3.2.	Zur Reaktion von in vivo bestrahlten Harnblasen der Sprague Dawley-Ratte auf zusätzliche Bestrahlung in vitro	54
3.3.	Zum Einfluß der in vitro Bestrahlung auf die cholinerge und adrenerge Ansprechbarkeit des isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte	54
3.3.1.	Acetylcholin	54
3.3.2.	Adrenalin	59
4.	Zum Einfluß der lokalen Bestrahlung der Harnblase in vivo auf die mechanische Aktivität und die Ansprechbarkeit auf Transmitter am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte	62
4.1.	Zum Einfluß der lokalen Bestrahlung mit 50 Gy in vivo auf die Acetylcholin-Wirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte	62

4.2.	Zum Einfluß der lokalen Bestrahlung mit 25 Gy in vivo auf die Acetylcholin-Wirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte	64
4.3.	Zum Einfluß der lokalen Bestrahlung mit 10 Gy in vivo auf die Acetylcholin-Wirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte	66
4.4.	Zum Einfluß der lokalen Bestrahlung mit 50 Gy in vivo auf die Adrenalin-Wirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte	72
4.5.	Zum Einfluß der lokalen Bestrahlung mit 25 Gy in vivo auf die Adrenalin-Wirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte	75
4.6.	Zum Einfluß der kombinierten Behandlung mit Phentolamin und lokaler Bestrahlung mit 50 Gy in vivo auf die Adrenalin-Wirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte	82
5.	Zum Einfluß von pränataler Belastung mit niedrigen Dosen von Gammastrahlen auf die Transmitterwirkung am isolierten M. detrusor von Wistar-Ratten	84
5.1.	Zur Wirkung von Acetylcholin am isolierten M. detrusor von Wistar-Ratten	84
5.2.	Zur Wirkung von Adrenalin am isolierten M. detrusor von Wistar-Ratten	85
6.	Histologische Untersuchungen	90
V.	<u>DISKUSSION</u>	91
VI.	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u> <u>SUMMARY</u>	102 104
VII.	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	106

I. PROBLEMSTELLUNG

Die gynäkologische und urologische Strahlentherapie ist durch unerwünschte Nebenwirkungen limitiert: z.B. treten bei 50% der Patientinnen mit Kollumkarzinom pathologische Darm-, bei 30% Harnblasenveränderungen auf, wobei in rund 10% der Fälle urologische Komplikationen - u.a. infolge von Schrumpfblass, Ureterstenose, Hydronephrose - zum Tode führen (ROSEN 1971; STRICKLAND 1980; KENNEDY 1981; BÖTTCHER, SCHÜTZ, MATHEI 1983). Morphologische Veränderungen im Urogenitalsystem nach Bestrahlung wurden im Tierexperiment demonstriert: Ureterstrikturen und Hydronephrose (KNOWLES, TROTT 1985, 1986), Karzinogenese (ANTONAKOPOULOS, HICKS, HAMILTON, BERRY 1982), Kinetik von Urothelproliferationen (STEWART, DENEKAMP, HIRST 1980).

Über die Pathogenese der urologischen Strahlenschäden ist sehr wenig bekannt, und die Klärung hängt mit der Erforschung der strahleninduzierten pathophysiologischen Reaktionen der glatten Muskulatur, des Urothels, der Blutgefäße und der Nervenelemente zusammen. Beobachtungen an Patientinnen mit Kollumkarzinom ergaben, daß nach Strahlentherapie eine Verminderung der Harnblasenkapazität, Detrusorhypertonie und verzögerte Miktions auftreten (KÜMPER, MICHAÏLOV, PENNING, GÖTZ 1975). Ferner wurde bei Radiocystitis eine starke Herabsetzung der elektrischen Potentialdifferenz von Blasenurothel festgestellt (HOHLBRUGGER, MICHAÏLOV, MADERSBACHER, JAKSE 1986, 1983).

Akute motorische Gefäß- und Harnblasenreaktionen nach Röntgenbestrahlung wurden in vitro bei isolierten tierischen und menschlichen (Operationsgewebe) Präparaten sowie in vivo bei Meerschweinchen und Maus erfaßt und pharmakologisch analysiert: u.a. zeigte sich, daß durch β -adrenerge Stimulation und cyclisches AMP sowie Indometazin (Prostaglandinsynthese-Hemmer) diese Reaktionen gehemmt werden (MICHAÏLOV, ELSÄSSER, KÜMPER, PRECHTER, WELSCHER et al. 1970, 1974a+b+c, 1975, 1979, 1983a+b+c; STEWART, DENEKAMP, HIRST 1978). Die motorischen und elektrischen Aktivitäten

der Harntraktpräparate sowie ihre Strahlenreaktionen sind vor allem von den ionalen Membranpermeabilitäten für K^+ und Ca^+ abhängig (MARTIN, TEMPEL, MICHAÏLOV et al. 1984; MICHAÏLOV, MARTIN, NEU, PETTER et al. 1984).

Die vorliegende Arbeit hat als Zielsetzung die Entwicklung eines experimentellen Modells zur Erfassung von akuten und chronischen motorischen Harnblasenschäden bei der Ratte nach lokaler Röntgenexposition in vivo, den Vergleich zu akuten Schäden in vitro und die Untersuchung des Strahleneinflusses auf die Ansprechbarkeit cholinerges sowie α - und β -adrenerger Hormonrezeptoren der Harnblase in Hinsicht auf eine mögliche Beteiligung dieser Rezeptoren an der Pathogenese von Funktionsstörungen der Harnblase nach Strahlentherapie.

II. EINLEITUNG

1. Zur Morphologie der Harnblase

Die Harnblase, ein glattmuskuläres Organ, dient als Urinkollektor und liegt extraperitoneal in enger Nachbarschaft zum distalen Uterinsegment.

1.1. Aufbau der Harnblase

Anatomisch unterscheidet man an der Harnblase den Blasen-scheitel (Vertex vesicae), den Blasenkörper (Corpus vesicae) und den Blasen-hals (Cervix vesicae). Funktionell unterteilt sich die Harnblase in den Blasen-hals mit dem Sphincter internus und dem Trigonum einerseits und den M. detrusor andererseits.

Die Harnblasenschleimhaut besteht aus einem einschichtigen, mehrreihigen Übergangsepithel mit gut entwickelter Submukosa, die Bindegewebe und elastische Fasern enthält.

Glatte S-förmige Muskelbündel bilden den dreischichtigen Muskelmantel der Harnblase, der bei einigen Tierarten aus einer stellenweise unvollständigen oder z.T. sogar fehlenden äußeren longitudinalen oder schrägen, einer mittleren transversalen und einer inneren longitudinalen Schicht besteht. Die Bündel der äußeren und inneren Schicht verflechten sich in der mittleren Schicht miteinander. Blasenscheitel und Blasen Hals werden von bogenförmigen Muskelschleifen umgeben, die am Blasen Hals als dorsale und ventrale Muskelschleife das Ostium urethrae internum umfassen und den Abschluß der Harnblasenmuskulatur darstellen (NICKEl et al. 1979).

Die Harnblase ist, soweit sie sich in das Peritoneum einstülpt, von diesem überzogen, sonst von Bindegewebe umgeben.

1.2. Gefäß- und Lymphversorgung der Harnblase

Die arterielle Blutversorgung geschieht über die Arteriae vesicales, die aus dem vorderen Stamm der A. iliaca interna entspringen. Kleinere Äste der A. obturatoria und A. glutea caudalis sowie von der A. uterina (beim weiblichen Tier) ziehen ebenfalls zur Harnblase.

Der venöse Abfluß geschieht über einen dichten Venenplexus, der sich aus den Venae vesicales bildet und mit der V. iliaca interna kommuniziert. Abflüsse sind auch über die Vv. uterinae und ovaricae möglich.

Während Mukosa und Submukosa frei von Lymphgefäßen sind, vollzieht sich der Lymphabfluß aus der Muskularis zu den paravesikalen, den hypogastrischen und den parailiakalen Lymphknoten (KREMLING et al. 1977).

1.3. Innervation der Harnblase

Die autonome Harnblaseninnervation ist durch ein enges Zusammenwirken von Sympathikus und Parasympathikus gekenn-

zeichnet; sie ist "multineural" (EL BADAWI UND SCHENK 1966, 1968).

Nach der gegenwärtigen Theorie sollen der Parasympathikus für eine Kontraktion des M. detrusor bzw. für die Miktion verantwortlich sein und der Sympathikus eine Relaxation vermitteln. Diese Relaxation soll durch Erregung von β -Rezeptoren hervorgerufen werden und ist zusammen mit dem Sphinctermechanismus für die Kontinenz verantwortlich. Die Stimulation evtl. vorhandener α -Rezeptoren führt nach geltender Anschauung zu einer Depolarisation der Muskelzellen und somit zu einer Kontraktion des M. detrusor (BRADLEY et al. 1975).

1.3.1. Präganglionäre Neurone

Die präganglionären parasympathischen Nervenfasern der unteren Harnwege entstammen den Nuclei intermediolaterales des 2. - 4. Sakralmarksegmentes und verlassen dieses mit den Ventralwurzeln der betreffenden Spinalnerven, vorab des N. pudendus. Als Nn. pelvini verlassen sie diesen und ziehen in den Plexus pelvinus (hypogastricus), um mit den sympathischen Anteilen den Plexus vesicalis zu formen. Dort wird ein Teil der Fasern vom prä- auf das postganglionäre Neuron umgeschaltet.

Die präganglionären sympathischen Nervenfasern entstammen den Nuclei intermediolaterales des hinteren Thorakal- und Lumbalmarkes und verlassen das Rückenmark mit den Ventralwurzeln der betreffenden Spinalnerven. Sie durchqueren den Grenzstrang, ziehen als Nervi splanchnici lumbales zum Plexus mesentericus caudalis und zum sympathisch-parasympathisch gemischten Plexus pelvinus (hypogastricus), um dort mit den Nn. pelvini den Pl. vesicalis zu bilden. Ihre Umschaltung von prä- auf postganglionäre Fasern kann in den verschiedenen Ganglien erfolgen (NICKEL et al. 1975; BRADLEY et al. 1975).

1.3.2. Plexus vesicalis

Der Plexus vesicalis cranialis ist ein perivaskuläres Nervengeflecht, das vom Plexus iliacus internus aus mit der A. vesicalis cranialis zum Scheitel der Harnblase zieht.

Die Ganglien des Plexus vesicalis caudalis sind Teil des Plexus pelvinus und finden sich vorwiegend im lockeren Bindegewebe des Blasenhalses. Nach EL BADAWI und SCHENK (1966, 1968) sind die parasymphatischen Ganglien von einem Geflecht postganglionärer sympathischer Fasern umschlossen, und möglicherweise besteht auch ein Geflecht von postganglionären parasymphatischen Fasern um sympathische Ganglien.

Die Verbindung zwischen sympathischen und parasymphatischen Ganglien durch Interneurone ermöglicht eine Regulierung und selbständige vegetative Koordinierung der Harnblasenfunktion.

Histochemische Untersuchungen zur Klärung der Frage, ob die Ganglien des Plexus vesicalis ausschließlich extramural oder auch intramural gelegen sind, fielen sowohl positiv als auch negativ aus, ebenso der Einsatz ganglienstimulierender und -blockierender Pharmaka (AMBACHE UND ZAR 1970; EL BADAWI UND SCHENK 1968).

1.3.3. Postganglionäre Neurone

Die terminalen Aufzweigungen der sympathischen und parasymphatischen postganglionären Neurone bilden zusammen mit den Interneuronen ein komplexes Netz, den neuroterminalen Plexus.

Diesem Plexus entstammende Neurone treten nun in Verbindung mit Muskelfasern, wobei von einer Nervenauzweigung mehrere Muskelfasern versorgt werden. Über den genauen Modus der Kontaktaufnahme Nerv-Muskelzelle bestehen verschiedene Modellvorstellungen (BRADLEY et al. 1975).

1.3.4. Zur vegetativen Innervation der Rattenblase

Die vegetative Innervation des M. detrusor der Ratte zeigt vor allem mit ihrem sympathischen Teil Abweichungen von der anderer Tierarten (EL BADAWI UND SCHENK 1966). So sollen im proximalen Drittel des M. detrusor adrenerge Nerven - außer spärlichen Netzwerken um die Gefäße - fast völlig fehlen.

Im mittleren Drittel erscheinen kleine Gruppen von sympathischen Nervenfasern im dorsalen (posterior) und seitlichen Bereich, während im ventralen (anterior) nur sehr wenige mit begrenzter Verzweigung vorhanden sind.

Im unteren Drittel, d.h. in Richtung Blasenhalss, ist der neuroterminale Plexus ausgeprägter, sympathische Nerven sind in allen Tiefen der Muskelschicht vorhanden, aber im seitlichen und dorsalen Bereich zahlreicher.

2. Zur Physiologie der Harnblase

2.1. Harnblasenfunktion

Im Gegensatz zum kontinuierlichen Harntransport der oberen Harnwege, ist die Blasenfunktion in zwei Phasen unterteilt:

1. In die Füll- oder Kollektionsphase und
2. in die Entleerungs- oder Miktionsphase.

Während der passiven Kollektionsphase ist ein Gleichgewicht zwischen afferenten stimulierenden und efferenten hemmenden Impulsen gegeben. Erst nach Erreichen der Kapazität kommt es zur Wahrnehmung der Blasenfüllung. Die Miktion kann willkürlich gehemmt werden, so daß keine unwillkürliche Detrusorkontraktion eintritt, bevor äußere Umstände dies erlauben (aktive Kollektionsphase).

Bei der Miktion werden die synergen Verhältnisse der stimulierenden und hemmenden Impulse reziprok; es kommt zur parasympathisch induzierten Detrusorkontraktion und zur reflektorischen, sympathisch bedingten Erschlaffung von Urethra und externem Sphincter (JONAS UND HEIDLER 1982).

2.2. Elektrophysiologie

Eine Einordnung der Harnblasenmuskulatur in die Gruppe des "multi-unit" Typs oder die des "single-unit" Typs ist nicht möglich, da sie im Hinblick auf die Klassifikationskriterien - Spontanaktivität, Dehnungsempfindlichkeit, nervale Kontrolle, elektrische Kopplung der Zellen - Merkmale beider Kategorien aufweist.

Aus diesen und weiteren Gründen lehnt BENNETT (1972) die "multi-unit" / "single-unit" Typisierung ab. Das ausschlaggebende Einteilungskriterium, nämlich die elektrische Kopplung der Zellen untereinander, die Frage also, ob es sich bei einem bestimmten Glattmuskelgewebe um ein elektrisches Syncytium handelt oder ob elektrisch isolierte Zellen vorliegen, wird von ihm als gegenstandslos betrachtet. Er gibt Anhaltspunkte dafür, daß die glatte Muskulatur aller Organe qualitativ gleich ist und zwar im Sinne eines elektrischen Syncytiums, mit dem einzigen Unterschied, daß einige Organe "Schrittmacher-Aktivität" ("pacemaker-activity") aufweisen - somit spontanaktiv sind - und andere nicht. Bei spontanaktiver Muskulatur unterscheidet BENNETT zwei Zellklassen:

- 1) Zellen, die wiederholt Aktionspotentiale feuern, sog. "Schrittmacher-Zellen" ("pacemaker-cells") und
- 2) Zellen, welche die von den "Schrittmacher-Zellen" stammenden Aktionspotentiale aufnehmen - "driven activity"; hier werden wiederum drei Untergruppen unterschieden. Auf Grund der häufig festgestellten Spontanaktivität wäre der menschliche M. detrusor somit in die Klasse der Glattmuskelorgane mit "Schrittmacher-Aktivität" einzuordnen. Hinweise dafür, daß der M. detrusor spontanaktive Zellen besitzt, geben auch intrazelluläre Ableitungen: Einzelne Zellen des M. detrusor des Meerschweinchens zeigen eine "spike-activity" bzw. "burst-activity", die pharmakologisch beeinflussbar ist (CREED 1971, MICHAÏLOV et al. 1980; NEU et al. 1984; WELSCHER et al. 1978).

BRADLEY (1974) beschreibt, unter Annahme der Theorie von

BENNETT, die elektrischen Eigenschaften des M. detrusor als durch "tight-junctions" gekennzeichnet, die die einzelnen Fasern eines Muskelbündels untereinander verbinden; die Muskelbündel ihrerseits sind wiederum durch einzelne Muskelfasern untereinander gekoppelt, so daß ein Aktionspotential von einem Muskelbündel auf ein benachbartes übergeleitet werden kann (BRADLEY et al. 1974).

3. Zur Pharmakologie der Harnblase

Wie bei den übrigen visceralen Organen, handelt es sich beim M. detrusor um glattes Muskelgewebe, das autonome cholinerge und adrenerge Nerven bzw. Rezeptoren besitzt. Die cholinergen postganglionären Rezeptoren werden als muskarinartig bezeichnet, die adrenergen in α_1 -, α_2 -, β_1 - und β_2 -Rezeptoren unterteilt; ein β_3 -Rezeptor wird postuliert (NERGARDH et al. 1977).

In histochemischen Nachweisverfahren für cholinerge und adrenerge Nerven konnte eine dichte und gleichmäßige Verteilung der cholinesterase-positiven Reaktionsstellen und eine im Vergleich dazu viel geringere und tierartlich unterschiedliche, ungleichmäßigere Verteilung adrenerger Anteile festgestellt werden (EL BADAWI UND SCHENK 1966; STACH et al. 1968).

Über Nachweis und funktionelle Differenzierung der cholinergen und adrenergen Rezeptoren der menschlichen Harnblase liegen zahlreiche Untersuchungen vor (AWAD et al. 1974, NERGARDH et al. 1974, 1977, SUNDIN et al. 1977, TAIRA 1972).

Unbestritten ist das Vorhandensein cholinerg und β -adrenerger Rezeptorfunktionen. Der Charakter der β -Rezeptoren, ob β_1 oder β_2 , ist umstritten; ein β_3 -Rezeptor wird postuliert. Der Nachweis von α -Rezeptoren war einerseits positiv, andererseits negativ (AWAD et al. 1974; TAIRA 1972).

Auch von zahlreichen Tierarten (Hund, Katze, Kaninchen,

Meerschweinchen, Ratte) liegen Untersuchungen über die cholinerge und adrenerge Innervation der Harnblase vor (EDVARSEN UND SETEKLIV 1968; DE SY 1970; MALIN et al. 1970; HUKOVIC et al. 1965; VANOVI 1965).

Durch Anwendung spezifischer, adrenerge Rezeptoren stimulierender und hemmender Substanzen konnten sowohl die Verteilung der α - und β -Rezeptoren als auch die Art der β -Rezeptoren in der Harnblase aufgeklärt werden. Übereinstimmung besteht darin, daß am Trigonum α - und β -Rezeptoren vorhanden sind, wobei der α -Effekt (exzitatorisch) den β -Effekt (inhibitorisch) überspielt. Am M. detrusor überwiegen die β -Rezeptoren, die bei den einzelnen Spezies von unterschiedlicher Charakteristik sind (EDVARSEN UND SETEKLIV 1968; NERGARDH et al. 1977).

Außer den klassischen Neurotransmittern (Acetylcholin, Noradrenalin) wird die Existenz und Wirksamkeit weiterer Transmitter diskutiert (BURNSTOCK 1972).

Auf Grund ihrer Wirkung an der Harnblase in situ und am isolierten Harnblasenpräparat wird Prostaglandinen, dem Histamin, dem cyclischen Adenosin-monophosphat (cAMP) und anderen Substanzen (wie Serotonin) eine Ko-transmitter- oder Mediatorfunktion zugesprochen (MICHAILOV et al. 1974a).

Da cAMP nicht nur als Mediator der inhibitorischen β -Rezeptorfunktion zu betrachten ist, sondern auch als "second messenger" für Prostaglandine fungieren soll, wird seine modifizierende Wirkung auch auf andere Hormone vermutet (SILBERNAGL UND DESPOPOULOS 1979; BÜLBRING et al. 1981).

4. Zur Wirkung ionisierender Strahlen auf die ableitenden Harnwege

4.1. Allgemeine Feststellungen

"Die Wirkung ionisierender Strahlen in einem biologischen System ist das Resultat einer Reaktionskette, an deren Anfang physikalisch-chemische Primärvorgänge stehen. Dazu gehören Ionisationen und Anregungen von Atomen und Molekülen der Zelle, die entweder als "direkte Treffer" oder auf dem Umweg über radiochemische Zwischenprodukte, vor allem chemisch aggressive freie Radikale und Peroxyde ihren zerstörenden Einfluß auf biologisch wichtige Makromoleküle übertragen und damit den Schädigungsbereich in der Zelle vergrößern. Am Ende dieser Reaktionskette stehen die beobachtbaren biologischen Effekte" (GÖSSNER 1972). Ionisierende Strahlen wirken biologisch grundsätzlich schädigend. Nach Art ihres Einflusses auf Säugetiere wird zwischen stochastischen und nicht-stochastischen, sowie zwischen somatischen und genetischen Effekten unterschieden. Stochastische Wirkungen hängen hinsichtlich der Wahrscheinlichkeit ihres Eintritts, nicht-stochastische Wirkungen hinsichtlich des Grades bzw. des Umfanges von der Strahlendosis ab. Erstere treten - nach geltender Anschauung - ohne Schwellendosis, letztere erst oberhalb einer bestimmten, u.a. von der Art des exponierten Organs oder Gewebes abhängigen Schwellendosis in Erscheinung. Somatische Effekte betreffen ausschließlich das exponierte Individuum, genetische Einflüsse die Nachkommenschaft. Zu den stochastischen Effekten gehören vor allem Mutagenese und Karzinogenese.

Bei den Nebenwirkungen der Strahlentherapie handelt es sich p r i m ä r um nicht-stochastische, somatische Strahlenwirkungen, deren Art und Umfang von zahlreichen Faktoren, wie dem bestrahlten Organ, dem Gewebe, der Strahlenart, der Strahlenenergie, der Strahlendosis und

den übrigen Bestrahlungsbedingungen (wie der räumlichen und zeitlichen Dosisverteilung) abhängen (KIEFER 1981; LISSNER UND HUG 1980; SELMAN 1983; TEMPEL 1983).

Die Toleranz der Harnblase ist merklich höher als die der Nieren mit einer Toleranzdosis von ungefähr 55 - 60 Gy verteilt über 4 Wochen. Die Komplikationen, die sich aus höheren Strahlendosen ergeben, schließen Zystitis, Ulzerationen, Fisteln, Fibrose und Blasenschrumpfung mit ein (ICRP PUBLIKATION 41 1984).

4.2. Funktionsstörungen nach gynäkologischer und urologischer Strahlentherapie

In vielen Fällen treten neben den allgemeinen Beschwerden nach Strahlenbelastung, die mit dem Sammelbegriff "Strahlenkater" bezeichnet werden, lokale Veränderungen auf, die hauptsächlich die Nachbarorgane des bestrahlten Herdgebietes betreffen.

Am häufigsten treten Frühreaktionen am Darm, besonders am Rektum auf. Strahlenbedingte Schädigungen der Gefäßendothelien, der Darmepithelien und der Peyerschen Platten führen vor allem zu entzündlichen Veränderungen, zu Permeabilitätssteigerung und Ödembildung. Da das Regenerationsvermögen des Darmes groß ist, nehmen Spätreaktionen, wie Ulzerationen, Fibrosierungen und Fistelbildungen nur verhältnismäßig selten ein bedrohliches Ausmaß an (BÖTTCHER et al. 1983).

Die strahlenbedingten Affektionen an der Harnblase sind hauptsächlich Frühreaktionen (bis 3 Monate nach Exposition), die von der Zystitis geprägt werden. Zystoskopisch lassen sich morphologische Veränderungen, wie das Irradiationserythem, hämorrhagische Entzündungen und subepitheliale Ödeme nachweisen, während durch die Zystotonometrie frühe funktionelle Störungen, wie erhöhter Tonus, verringerte Kapazität und verminderter Miktionsdruck nachgewiesen werden können (BÖTTCHER et al. 1983; KÜMPER et al. 1975).

Die meist erst nach Jahren auftretenden Spätreaktionen stellen schwerwiegende morphologische und funktionelle Veränderungen an Harnblase, Ureteren und Nieren dar. Beispielsweise können Reparationen von Ulzerationen und Nekrosen narbige Strikturen der Ureteren - vor allem am intramuralen Harnleiterabschnitt - und Blasenschrumpfung bewirken. Weitere schwerwiegende Komplikationen stellen Rekto-, Vesiko- und Ureterovaginalfisteln dar. Durch das chronische Entzündungsgeschehen in der Harnblase und die schwerwiegenden Funktionsstörungen werden aufsteigende Infektionen der Nieren begünstigt, die zum Tod des Patienten führen können (ROSEN 1971; PRIGNITZ et al. 1983; STRICKLAND 1980).

4.3. Modelle zur Erfassung somatischer Strahleneffekte am Harntrakt

Zur Erfassung der akuten und chronischen strahleninduzierten morphologischen Veränderungen bestrahlten beispielsweise ANTONAKOPOULOS et al. (1982) die Harnblase von Ratten in vivo mit einer einmaligen Dosis von 20 Gy und führten eine Woche bis 20 Monate nach Bestrahlung histologische Untersuchungen an den Blasen und den angrenzenden Organen durch.

Bereits nach einer Woche konnten Schäden an der Basalzellschicht des Urothels und am Endothel der Blutgefäße beobachtet werden. Sechs Monate nach Bestrahlung waren am Urothel herdförmige Hyperplasien und Degenerationen sowie Nekrosen der glatten Muskulatur und eine deutliche Bindegewebsfibrose erkenntlich.

Von 17 Ratten, die 20 Monate nach Bestrahlung untersucht worden waren, konnten bei 10 Ratten Karzinome des Übergangsepithels festgestellt werden.

KNOWLES (1985) und KNOWLES UND TROTT (1986) führten Bestrahlungen der Ureteren (begrenzt auf eine Länge von 1,5

cm) und des Trigonums bei Ratten durch. Die Latenzzeit zwischen Bestrahlung und Auftreten pathologischer Erscheinungen war dosisabhängig. Nach einer einseitigen Ureterbestrahlung mit 37 Gy zeigte sich bei allen Ratten nach durchschnittlich 2 Monaten eine Ureterstriktur mit Hydroureter und Hydronephrose.

Knapp 4 Monate nach Bestrahlung mit 23 Gy waren bei 14 von 16 Ratten die gleichen pathologischen Veränderungen vorhanden.

Nach Trigonumbestrahlung entwickelte sich nach einem dosisabhängigen Zeitintervall eine beidseitige Ureterstriktur.

In histologischen Untersuchungen wurden Hyperplasie des Urothels, Fibrose der Ureterenwand und Gefäßschäden festgestellt.

Dem Zusammenhang zwischen morphologischen und funktionellen Veränderungen in Abhängigkeit von Strahlendosis und Zeit galten Untersuchungen von STEWART et al. (1978, 1980) an der Harnblase von Mäusen nach lokaler Bestrahlung. Die morphologischen Veränderungen wurden an der Proliferationskinetik des Urothels gemessen, während als Maß für die funktionellen Störungen Harnabsatzfrequenz und Harnmenge dienten.

Die Autoren beobachteten erst drei Monate nach Exposition eine kompensatorische Urothelproliferation, die sich im weiteren zeitlichen Verlauf verstärkte und mit gleichzeitigen funktionellen Störungen einherging. Es zeigte sich auch, daß das Urothel regenerationsfähig ist, aber die oberste Urothelschicht nicht ihre charakteristische Differenzierung erhält und so - über die laufende Irritation durch den Urin - die Proliferation aufrecht erhalten wird.

Die akuten strahleninduzierten Funktionsänderungen wurden von MICHAÏLOV et al. (1970a, 1974, 1979) an isolierten Harnblasenpräparaten von Mensch und Meerschweinchen untersucht.

In vitro-Bestrahlung isolierter Detrusorpräparate von Mensch und Meerschweinchen führte zu einer tonischen Kontraktion, deren Eintritt und Größe dosis- und dosisleistungsabhängig waren.

Wiederholte Bestrahlung bei konstanter Dosis und Dosisleistung führte zu einer fortlaufend abnehmenden Kontraktion, die schließlich in einer "Tachyphylaxie" endete. Pharmaka, die cholinerge und adrenerge Rezeptoren beeinflussen, wie Acetylcholin, Physostigmin, Atropin sowie Isoprenalin und Propranolol einschließlich einiger ganglienblockierender Substanzen, übten keinen nachweislichen Einfluß auf die strahleninduzierte Reaktion der Präparate aus. Die Autoren schlossen daraus, daß die strahleninduzierte Reaktion myogenen Ursprungs ist (MICHAILOV et al. 1974a)

Die Schwellendosis des menschlichen M. detrusor lag zwischen 1 und 10 Gy und war im Vergleich zu der des Meerschweinchens (bis 50 Gy) deutlich niedriger. Die nach wenigen Sekunden eintretende Reaktion des isolierten Meerschweinchendetrusors konnte am menschlichen M. detrusor erst nach 1 - 3 Minuten beobachtet werden. Für die nach wiederholter Bestrahlung eintretende, über Stunden persistierende, tonische Kontraktion war am isolierten menschlichen M. detrusor eine wesentlich niedrigere Gesamtdosis erforderlich (MICHAILOV et al. 1979).

In eigenen Untersuchungen wurden am isolierten Rattendetrusor der akute und chronische Strahleneinfluß in vitro und in vivo, sowie nach pränataler intrauteriner Strahlenbelastung untersucht. Die Wirkung auf die mechanische Aktivität und die Ansprechbarkeit auf Transmitter, wie Acetylcholin und Adrenalin, wurden geprüft.

III. METHODIK

1.1 Versuchsdurchführung

Die akuten und chronischen Untersuchungen des Strahleneinflusses in vivo und in vitro auf das pharmako-physiologische System des M. detrusor wurden an 6 - 8 Monate alten männlichen Albinoratten der Rasse Sprague Dawley/Nhg.* und Wistar/Nhg.* vorgenommen, die alle aus dem Kleintierhaus der GSF stammten und unter den gleichen Bedingungen aufwuchsen. Für die Untersuchung des pränatalen Strahleneinflusses standen männliche und weibliche Albinoratten der Rasse Wistar/Nhg.* zur Verfügung, deren Mütter in verschiedenen Gestationsstadien einer Ganzkörperbestrahlung unterzogen worden waren.

1.2. Nährlösungen und Pharmaka

Bei Präparation der glattnuskulären Organpräparate und während der gesamten Versuche wurde Mc Ewen-Lösung, welche frei von Mg^{++} -Ionen ist, verwendet. Die Lösung wurde während des Versuchs mit Carbogen (95% O_2 und 5% CO_2) begast. Die Temperatur der Lösung wurde mit einem Thermostaten (Thermomix variabel, der Fa. B. Braun, Melsungen) konstant bei 37°C, für eine Betropfung mit ca. 12 ml/min, gehalten. Dieser Lösung wurden die zu untersuchenden Pharmaka zugesetzt.

Die Lösung wurde am jeweiligen Versuchstag aus Stammlösungen frisch zubereitet und hatte folgende Zusammensetzung:

NaCl	130,0 mmol/l	NaHCO ₃	25,0 mmol/l
KCl	5,6 mmol/l	Glukose	10,1 mmol/l
CaCl ₂	2,1 mmol/l	Saccharose	13,2 mmol/l
NaH ₂ PO ₄	1,2 mmol/l		

Der pH-Wert der Lösung betrug 7,6, ihre Osmolarität 330 mosmol/l.

* Neuherberg

Folgende Pharmaka wurden verwendet:

1. Acetylcholin
Acetylcholinum ophthalmicum Dispersa^R,
Dispersa Baeschlin GmbH, Germering
2. Atropin
Atropinum sulfuricum cryst., Merck AG, Darmstadt
3. Adrenalin
Adrenalinbitartrat^R, Caesar u. Loretz, Hilden
4. Phentolaminmethansulfonat
Regitin^R, CIBA-GEIGY, Wehr/Baden
5. Propranololhydrochlorid
Dociton^R, ICI-Pharma, Plankstadt
6. Omnipaque 350^R SHL 412 D, Schering AG, Berlin
7. Pentobarbital-Na, Nembutal^R, Ceva GmbH, Bad Segeberg

1.3. Präparation des Detrusors

Das Abdomen der Ratte wurde in der Medianen von der Bekkensymphyse bis zum Sternum und durch zwei seitliche Entlastungsschnitte im Bereich der Hinterextremitäten vollständig eröffnet.

Mit einer kleinen Schere wurden nun das ventrale mediane Harnblasenband durchtrennt und die die Blase umhüllenden akzessorischen Geschlechtsdrüsen schonend abpräpariert. Während der Präparation wurde die Harnblase mit 37°C warmer Mc Ewen-Lösung betropft.

Die von dem sie umgebenden Gewebe freipräparierte Harnblase wurde nach caudal geklappt, die dorsale Blasenhälfte durch einen Scherenschnitt in der Länge bis zur Einmündung der Ureteren halbiert; der dorsale Teil des M. detrusor wurde vor dem Trigonum vesicae abgesetzt und auf einen Paraffinblock gebracht. Daraufhin wurden durch einen Längsschnitt zwei Präparate, die ca. 2 mm breit und 7 - 9 mm lang waren, hergestellt und an ihren Enden mit Seidenfäden versehen, die zur Aufhängung an der Versuchsausrüstung dienten.

1.4. Erfassung der mechanischen Spontanaktivität

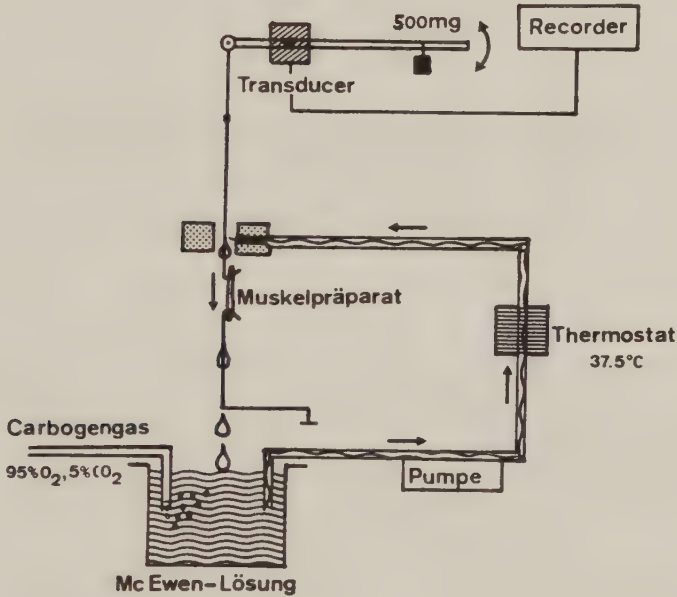


Abb. 1: Schema des Versuchsaufbaus zu Registrierung der mechanischen Aktivität des M. detrusor

Die Organstreifen wurden an ihren Enden mit Seidenfäden zwischen dem Aufnehmerhebel eines isotonischen Transducers (Harvad Smooth Muscle Transducer) und einem Glashaken gehängt und fixiert. Die Vorbelastung betrug 500 mg. Die Spontankontraktionen wurden isotonisch registriert und über einen Mehrkanalschreiber (Rikadenki, Mark II) aufgezeichnet. Der Verstärkungsfaktor betrug 1 : 32.

2. Vorbehandlung der Versuchstiere

2.1. Bestrahlung isolierter Präparate des M. detrusor in vitro

Strahlenquelle

Bestrahlt wurde der isolierte M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte mit einer Siemens Dermopan-Röhre, Röhrenspannung 50 kV, Röhrenstrom 20 mA, mit wechselweise vorschaltbaren Aluminiumfiltern von 0,3, 0,6 bzw. 1,0 mm Dicke.

Dosisleistung

Die Untersuchungen bei einer Dosisleistung von 30 Gy/min, 60 Gy/min und 200 Gy/min wurden mit einem 0,3 mm Aluminiumfilter durchgeführt. Dosis und Dosisleistung wurden mit einem in "Röntgen" geeichten Dosimeter bestimmt und die erhaltenen Werte in "Gray" (Gy) (absorbierte Energie) umgerechnet ($1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/kg} = 100 \text{ Rad}$).

Unter den gewählten Bedingungen gilt näherungsweise

für Wasser und Gewebe: $\text{Dosis in R} \times 1 = \text{Rad}$

für Luft: $\text{Dosis in R} \times 0,87 = \text{Rad}$

Die Dosisleistung wurde nach einer Eichkurve durch Änderung des Fokus-Objekt-Abstandes variiert.

Tiefendosisverteilung

Die Halbwertschichtdicke in Wasser betrug bei Verwendung des 0,3 mm Aluminium-Filtern etwa 4 mm. Die Präparate waren mit ihrer Adventitia der Röntgenröhre zugewandt, hatten eine Dicke von ca. 1 mm und waren durch die Betropfung von einem Flüssigkeitsfilm von ungefähr 1 mm umgeben.

2.2. Lokale Bestrahlung der Harnblase in vivo

Strahlenquelle

Die lokale Bestrahlung der Harnblase erfolgte an einer Isovolt 420 D Röntgenanlage der Fa. Seifert, Ahrensburg, mit einer maximalen Röhrenspannung von 300 kV und einem Röhrenstrom von 13 mA.

Der Focus-Objekt-Abstand betrug 27 cm; das vorgeschaltete Filter bestand aus 1 mm Aluminium und 0,6 mm Kupfer.

Vorbereitung der Ratten auf die Bestrahlung in situ

Die Ratten wurden einer oberflächlichen Äthernarkose unterzogen und gewogen; anschließend wurde eine intraperitoneale Injektionsnarkose mit Pentobarbital-Na (Nembutal^R) in einer Dosierung von 40 mg/kg Körpergewicht durchgeführt. Sobald, nach wenigen Minuten, das Toleranzstadium erreicht war, wurden den Ratten ca. 0,4 ml eines jodhaltigen Kontrastmittels (Omnipaque^R, Schering) in eine der paarigen Unterzungenvenen injiziert. Diese bisher beschriebene Behandlung wurde sowohl bei den anschließend zu bestrahlenden Tieren als auch bei den Kontrollen durchgeführt.

Durchführung der Bestrahlung

Zehn Minuten nach Applikation hatte sich das Kontrastmittel in ausreichender Menge im Harntrakt angereichert. Die narkotisierte Ratte wurde an Schwanz und Hinterbeinen, mit der rechten Körperseite dem Röntgentubus anliegend, aufgehängt. Darauf wurde bei latero-lateralem Strahlengang eine Übersichtsaufnahme des Abdomens von der Beckensymphyse bis zum Sternum auf einen Polaroid Pola Pan Planfilm Typ 52 (Fa. Polaroid Corporation, Cambridge, Mass. U.S.A.) angefertigt (eingestellte Werte: 35 kV, 52 mAs).

Diese Aufnahme, bei der die Harnblase und meist auch das Nierenbecken sowie der Verlauf der Ureteren sichtbar

waren, diente zur exakten Ausblendung der Harnblase (s. Abb. 2a). Zur Abschirmung, vor allem des strahlensensiblen Darmes und der Ureteren, diente eine 4 mm starke Bleiplatte mit einem maximal 2,5 x 1,5 cm großen Fenster in der Mitte, das jeweils der Blasengröße - speziell dem M. detrusor - angepaßt wurde. Durch Magneten war es am Tubus befestigt und konnte soweit verschoben werden, bis die Harnblase im Zentrum des Fensters lag. Durch eine weitere Aufnahme wurde die korrekte Lage der Bleiabschirmung bestätigt (s. Abb. 2b). Anschließend wurden die Harnblasen jeweils mit Strahlendosen von 50 Gy, 25 Gy bzw. 10 Gy bei einer Dosisleistung von 4,1 Gy/min einmalig bestrahlt.

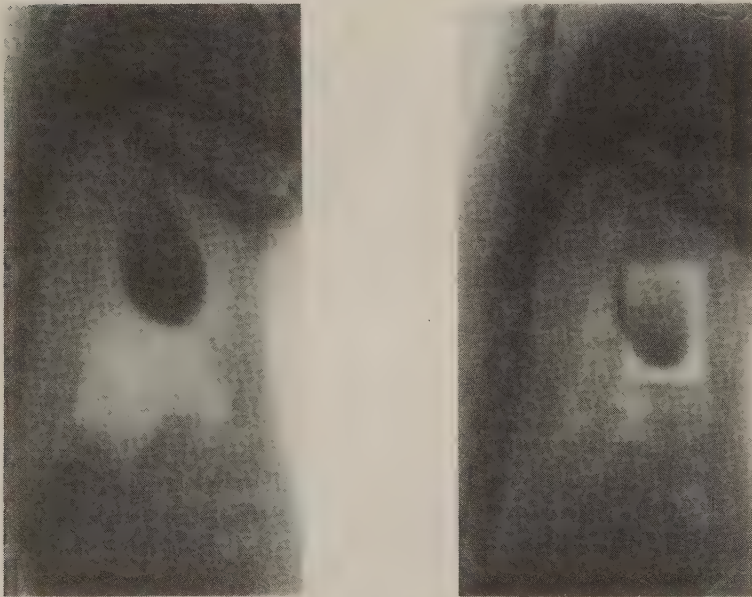


Abb. 2: Kontrastaufnahme des Beckens und Abdomens der Ratte:
a: Darstellung beider Nierenbecken sowie der Ureteren und der Harnblase 15 min nach intravenöser Kontrastmittelapplikation
b: Darstellung der ausgeblendeten Harnblase (des M. detrusor)

2.3. Vorbehandlung mit spezifischen Rezeptorantagonisten

Um die Relevanz der Wirkung der im Versuch eingesetzten Überträgerstoffe darzustellen, wurden in Vorversuchen mehreren Ratten spezifische rezeptorenblockierende Substanzen intramuskulär injiziert.

Zur Blockade des postganglionären muscarinartigen Acetylcholin-Rezeptors wurde einer Gruppe von 4 Ratten 1 Stunde vor Versuchsbeginn 1 mg Atropinsulfat/kg Körpergewicht intramuskulär injiziert, was einer Konzentration von $1,4 \times 10^{-6}$ mol/l in vitro entspricht.

Eine andere Gruppe wurde 1 Stunde vor Untersuchung mit 3,8 mg Phentolaminmethansulfonat/kg Körpergewicht, einem spezifischen Blocker des adrenergen α -Rezeptors, vorbehandelt; diese Substanzkonzentration entspricht in vitro 10^{-5} mol/l. Einige dieser Ratten wurden anschließend zusätzlich mit 50 Gy bestrahlt.

3. Versuchsbedingungen und -ablauf

Nach 1-stündiger "Warmlaufzeit" der Versuchsaapparatur sowie ihrer Überprüfung und Eichung wurden 200 ml Mc Ewen-Lösung in einem oben mit Aluminiumfolie abgeschlossenen Gefäß (zum Schutz vor Verdunstung) für die Betropfung aufgestellt und mit Carbogen begast. Als nützlicher Nebeneffekt der Begasung erwies sich die gleichmäßige Durchmischung der später zugefügten Pharmaka.

Anschließend wurden die Präparate den Tieren entnommen; die Detrusor-Präparate von jeweils einem Kontrolltier und einer behandelten Ratte (Bestrahlung oder Rezeptorblocker) wurden paarweise nebeneinander aufgehängt.

Nach Verbringen der Präparate in die Versuchsaapparatur konnte, je nach dem vorherigen Füllungsgrad der Harnblase und der Abkühlung während der Präparation, Relaxation oder Kontraktion beobachtet werden. Nach einer Adaptationszeit

von 30 - 60 Minuten stellten sich konstanter Tonus und beständige phasische Aktivität ein. Bei einigen Präparaten schwankte der Tonus während des gesamten Versuchs und erlaubte somit keine Verwertung. Nun wurden die Länge der Präparate gemessen und 10^{-4} mol/l Ascorbinsäure dem Organbad zugefügt. Die Ascorbinsäure diente der Stabilisierung des später zugesetzten Adrenalins und führte i.d.R. vorübergehend zu einer Zunahme der Spontanaktivität und des Tonus über einen Zeitraum von 20 - 30 Minuten. Nach Ablauf dieser Adaptationszeit begann der eigentliche Versuch.

4. Auswertung mit statistischer Beurteilung der Ergebnisse

Die Beschreibung der Versuchsergebnisse setzt einige Definitionen und Hinweise auf verwendete Meßgrößen voraus.

Definitionen:

1. Der Spannungszustand eines Präparates wird als Tonus ("initial tone", "basic tone") bezeichnet
2. Die kurzzeitige Spannungsänderung als phasische Aktivität (Spontanaktivität)

Meßgrößen:

Bei isotonischer Meßtechnik wird die mechanische Aktivität von Muskeln als kurzfristige und längerfristige Längenänderung registriert. Die gemessene Längenänderung wurde auf die Ausgangslänge des isolierten Präparates nach der Adaptation bezogen und als prozentuale Änderung dargestellt. Die Änderung der mechanischen Aktivität nach Transmitterzugabe mußte spätestens nach drei Minuten eintreten; die phasische und/oder tonische Änderung mußte mehr als ein Drittel der phasischen Kontraktion (Amplitude) betragen. Die niedrigste Transmitterkonzentration, die diese Veränderungen bewirkte, wurde als Schwellenkonzentration be-

zeichnet. Die durchschnittliche Schwellenkonzentration der einzelnen Testgruppen (Bestrahlung bzw. Rezeptorenblocker) wurde mit der der Kontrollen verglichen und die Signifikanz der Differenz nach dem t-Verfahren nach Student berechnet (RAMM UND HOFMANN 1982).

Als Kriterien für die Verwendbarkeit eines Detrusor-Präparates galten:

1. Auftreten von spontaner phasischer Aktivität und ihre Beständigkeit über Stunden.
2. Relativ konstante tonische Aktivität über Stunden (s. Abb. 3).

IV. ERGEBNISSE

1. Allgemeine methodische Versuche

1.1. Wahl des Detrusorabschnittes

In Vorversuchen zeigte sich, daß Präparate von verschiedenen Abschnitten des M. detrusor in ihrer Spontanaktivität und hormonellen Ansprechbarkeit variierten. Es mußte daher der für das Versuchsvorhaben geeignetste Abschnitt des M. detrusor herausgefunden werden.

Präparate aus dem ventralen Teil des M. detrusor zeigten in allen Versuchen einen konstanten Tonus über mehrere Stunden, aber eine sehr geringe spontane Aktivität, die zudem meist erst 1 Stunde nach Versuchsbeginn allmählich einsetzte und in keinem Versuch die der dorsalen Präparate erreichte. Die Ansprechbarkeit auf alle zu untersuchenden Transmitter und auf Ascorbinsäure war im Vergleich zu jenen Präparaten aus dem dorsalen Teil des M. detrusor deutlich herabgesetzt (10-fach), s. Abb. 3b, 3c. Da aber die spontane mechanische Aktivität ein wesentliches Kriterium für die Verwertbarkeit des Präparates darstellte (Ausschluß einer Schädigung), wurden Präparate aus dem ventralen M. detrusor für weniger geeignet gehalten.

Präparate aus dem dorsalen Teil des M. detrusor der Ratte zeigten meist nach Verbringen an die Versuchsausrüstung oder nach wenigen Minuten eine deutliche Spontanaktivität, die im weiteren Verlauf der Adaptationsphase zunahm. Während die meisten Präparate anfangs relaxierten und sich dann kontrahierten, reagierten einige umgekehrt. Nach 40- bis 60-minütiger Adaptationszeit erreichten fast alle Präparate konstanten Tonus und konstante phasische Aktivität, die, von kleineren Schwankungen abgesehen, über einige Stunden anhielten (s. Abb. 3a).

Detrusor vesicae (Ratte)

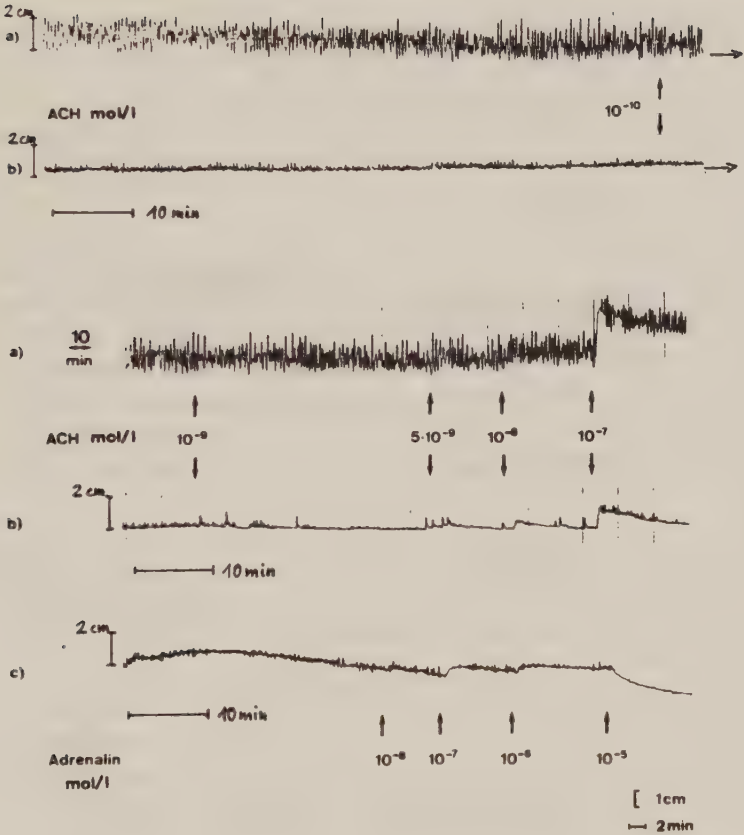


Abb. 3: Darstellung der mechanischen Spontanaktivität und Reaktion auf Acetylcholin und Adrenalin des isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte:

Vergleichende Gegenüberstellung eines Präparates aus dem "dorsalen" Teil des M. detrusor (a) und aus dem "ventralen" Teil (b, c)

1.2. Auswirkungen von schädigenden Einflüssen auf die mechanische Aktivität des isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte

Übermäßiges Dehnen oder Quetschen während des Präparierens oder beim Verbringen an die Versuchsaapparatur führte zu einer irreversiblen Schädigung des Präparates, die sich in einer stark verminderten Spontanaktivität oder in völligem Ausfall äußerte. Auch die hormonelle Ansprechbarkeit war deutlich vermindert (Abb. 4a)

Kurzfristige partielle Austrocknung eines Präparates, etwa durch fehlerhafte Betropfung, zeigte sich in einer Abnahme der Amplitude und Zunahme des Tonus und war nach Einrichten des Tropfes reversibel. Bei längerer Dauer dieses Zustandes (10 Minuten oder mehr) erholte sich das Präparat je nach dem Grad der Austrocknung nur bedingt und blieb in seiner hormonellen Ansprechbarkeit deutlich gehemmt (Abb. 4b)

Geringgradige Abkühlung des Präparates, wie es während des Präparierens der Fall war, hatte keinen nachteiligen Einfluß und führte nur zu vorübergehender Kontraktion des Präparates.

Bei erniedrigten Temperaturen (27°C) waren die Frequenz der phasischen Kontraktionen und die Amplitude deutlich herabgesetzt, während es zu einer anhaltenden tonischen Kontraktion kam. Nach Temperaturerhöhung war dieser Zustand reversibel (Abb. 4c)

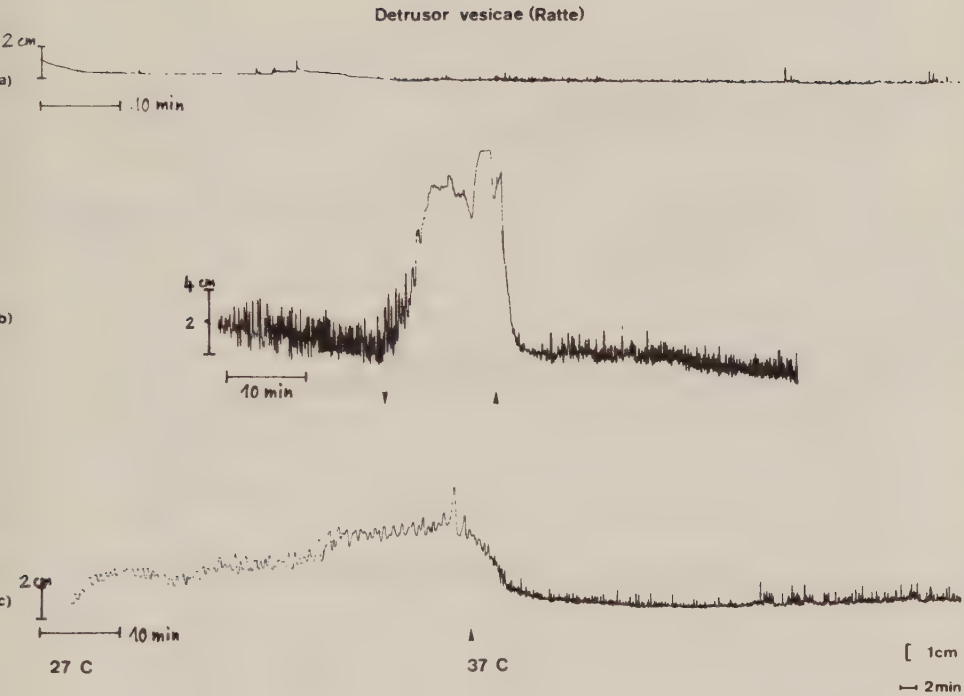


Abb. 4: Einfluß von veränderten Versuchsbedingungen und schädigenden Einflüssen auf die mechanische Aktivität des isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte:

- a: Stark gehemmte Spontanaktivität eines traumatisierten Präparates
- b: Hemmung der phasischen Aktivität und Tonuszunahme bei kurzfristigem Ausfall des Tropfes
- c: Veränderung der phasischen und tonischen Aktivität bei erniedrigter Temperatur

1.3. Zur Wirkung von Ascorbinsäure auf die mechanische Aktivität des isolierten M. detrusor

Die Katecholamine sind in wäßriger Lösung instabil und unterliegen der Oxidation. Sie können durch Antioxidantien und Erhöhung der Protonenkonzentration stabilisiert werden. Nach Adaptation der Präparate wurde Ascorbinsäure in einer Konzentration von 10^{-4} mol/l der Mc Ewen-Lösung zugefügt; bei den Präparaten wurden drei unterschiedliche Reaktionen ausgelöst (s. Abb. 5).

Die meisten Präparate reagierten unmittelbar nach Ascorbinsäurezusatz mit einer deutlichen Kontraktion (im Mittel 4% der Präparatlänge) und einer Zunahme der phasischen Aktivität. Je geringer die Kontraktion und somit die Tonuserhöhung waren, desto schneller erreichten diese Präparate wieder ihren Ausgangstonus. Bei mittlerer Kontraktion waren Ausgangstonus und Ausgangsaktivität spätestens 30 Minuten nach Ascorbinsäurezugabe wieder erreicht (s. Abb. 5b).

Ca. 10% der Präparate reagierten auf Ascorbinsäurezusatz mit einer überdurchschnittlichen, bis 10% der Präparatlänge betragenden und anhaltenden Tonuserhöhung. Während bei den meisten Präparaten dieser Gruppe nach 1 - 2 Stunden wieder eine teilweise Relaxation und somit Tonuserniedrigung eintrat, blieb bei einigen der erhöhte Tonus bestehen (s. Abb. 5a).

Bei 5% der Präparate konnte trotz guter Ausgangsaktivität nach Ascorbinsäurezugabe keine sichtbare Veränderung der mechanischen Aktivität beobachtet werden (s. Abb. 5c).

Die Reaktion der isolierten Detrusorpräparate auf Ascorbinsäure war von der Bestrahlung unabhängig.

Ein nachteiliger Einfluß der Ascorbinsäure auf die hormonelle Ansprechbarkeit (Schwellenkonzentration) jener Präparate, die mit einer starken und anhaltenden Tonuserhöhung reagierten, konnte nicht ausgeschlossen werden.

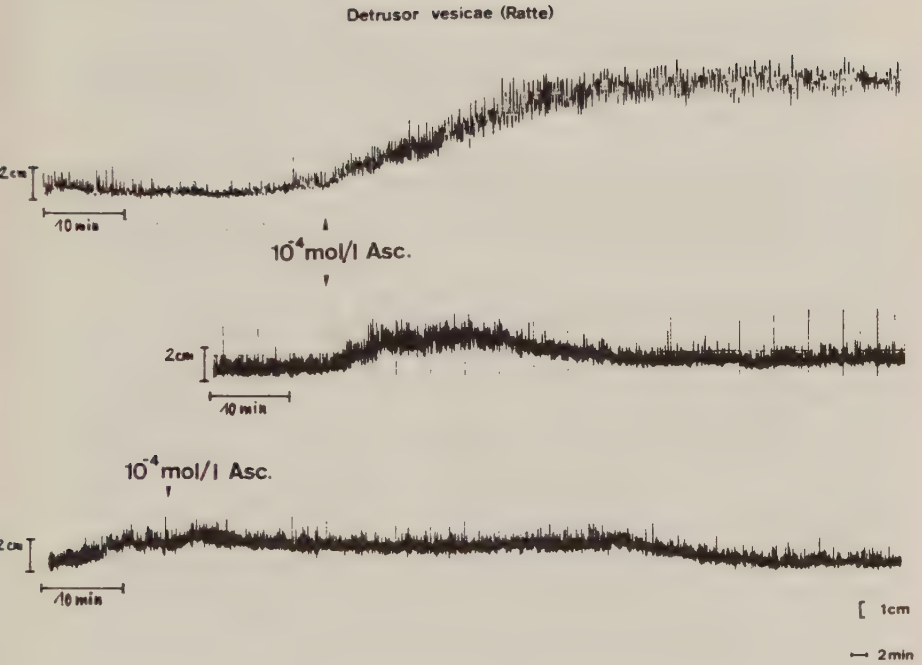


Abb. 5: Einfluß von Ascorbinsäure (10^{-4} mol/l) auf die mechanische Aktivität des isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte:

- a: Erhöhung der phasischen Aktivität und überdurchschnittliche und anhaltende Tonuserhöhung
- b: Kurzfristige Erhöhung der phasischen und tonischen Aktivität (bis 30 min)
- c: Undeutliche Änderung der Spontanaktivität trotz deutlicher Ausgangsaktivität

2. Spezielle methodische Versuche: Cholinerge und adrenerge Ansprechbarkeit des isolierten M. detrusor der Ratte

2.1. Zur Wirkung von Acetylcholin (cholinerge Reaktion) am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley- und Wistar-Ratte

Die Wirkung von Acetylcholin auf den isolierten M. detrusor wurde nach zwei Verfahren geprüft:

a) Die Konzentration von Acetylcholin wurde schrittweise, beginnend mit 10^{-10} mol/l jeweils im Abstand von zehn Minuten, um das 5- bzw. 10-fache bis auf eine Endkonzentration von 10^{-5} mol/l erhöht, unter Vernachlässigung der bereits zugegebenen Hormonmenge (s. Abb. 6a).

Die erstmals zu einer sichtbaren Änderung der mechanischen Aktivität führende Acetylcholinkonzentration (= Schwellenkonzentration), wurde nach folgenden Kriterien ermittelt:

Die Reaktion des M. detrusor, die sich bei Acetylcholin ausschließlich in einer Kontraktion zeigte, mußte spätestens drei Minuten nach Hormonzugabe erfolgen und mehr als ein Drittel der phasischen Kontraktion betragen. Die so ermittelte Acetylcholinkonzentration lag bei durchschnittlich 3×10^{-10} mol/l.

Bis zu einer Acetylcholinkonzentration von 10^{-8} mol/l wurde die phasische Aktivität (Amplitude und Frequenz) des M. detrusor nicht sichtbar beeinflusst. Der Tonus erreichte innerhalb von 30 - 60 Sekunden seinen Maximalwert und kehrte nach wenigen Minuten auf sein Ausgangsniveau zurück (s. Abb. 6a).

Mit steigender Acetylcholinkonzentration reagierten die Detrusorpräparate immer früher mit einer Kontraktion; der erhöhte Tonus kehrte nicht mehr auf die Ausgangslinie zurück. Die phasische Aktivität wurde bei der jeweiligen Maximalkontraktion kurzfristig stark gehemmt, erholte sich aber mit dem teilweisen Absinken des Tonus nach einigen Minuten wieder. Die relativ stärkste Kontraktion und somit Tonuserhöhung konnte bei einer Acetylcholinkonzentration zwischen 10^{-6} und 10^{-5} mol/l beobachtet werden.

Bei einer Konzentration von 10^{-5} mol/l kontrahierten sich die Detrusorpräparate um durchschnittlich 20% ihrer Ausgangslänge (s. Tab. 5, Abschnitt 4.3.).

Wurden anschließend die Präparate mit frischer Mc Ewen-Lösung betropft, so reagierten sie mit Relaxation und Steigerung ihrer phasischen Aktivität, so daß meist nach 45 Minuten wieder der Ausgangstonus und die Anfangsaktivität erreicht waren.

Wiederholte Acetylcholinzugabe nach dem gleichen Schema führte in fast allen Fällen zu gleichen Reaktionen und Ergebnissen (s. Abb. 6 a).

b) Beim 2. Verfahren zur Prüfung des Acetylcholin-Einflusses auf den isolierten M. detrusor wurden die Präparate jeweils für zwei Minuten mit der entsprechenden Acetylcholinkonzentration betropft. Die Präparate erreichten bei hohen Acetylcholinkonzentrationen spätestens nach einer Minute ihre maximale Tonuserhöhung (s. Abb. 6b).

Zwischen zwei Transmitterapplikationen wurde mit Mc Ewen-Lösung ausgewaschen, so daß phasische Aktivität und Tonus des Präparates wieder auf ihr Ausgangsniveau zurückkehrten. Bei niedrigen Acetylcholinkonzentrationen wurde dies schnell erreicht; nach Einwirkung höherer Konzentrationen als 10^{-6} mol/l blieb der Tonus stets etwas über seinem Ausgangsniveau.

Diese Art der Acetylcholinzugabe ließ die von jeder Acetylcholinkonzentration bewirkte Veränderung der mechanischen Aktivität besser erkennen (s. Abb. 6 b).

Die Reaktion des isolierten M. detrusor auf Acetylcholin war bei Ratten der Rassen Sprague Dawley und Wistar gleich.

Detrusor vesicae (Ratte)

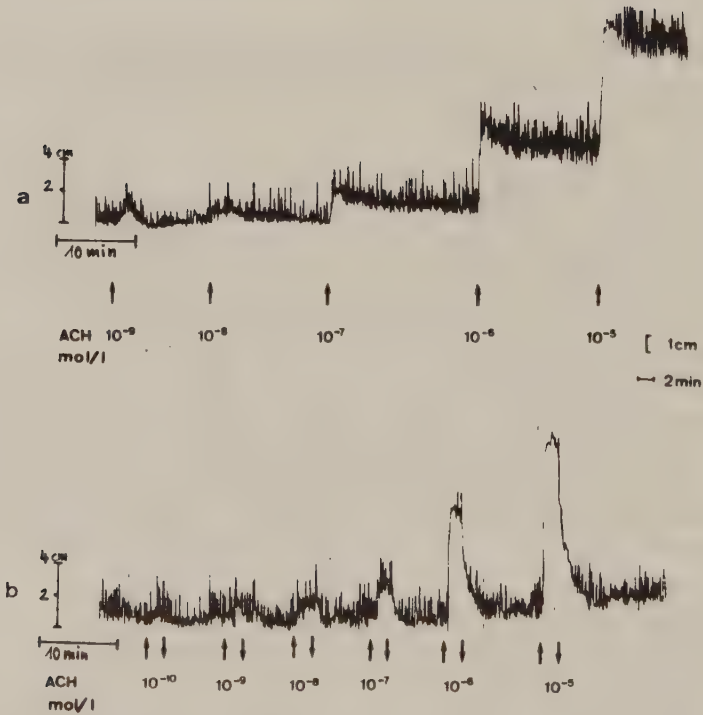


Abb. 6: Einfluß von Acetylcholin in Konzentrationen von 10^{-10} bis 10^{-5} mol/l auf die mechanische Aktivität des isolierten M. detrusor der Sprague Dawley- und Wistar-Ratte:

- a: Bei fortlaufender Erhöhung der AcetylcholinKonzentration
- b: Bei zeitlich begrenzter (jeweils 2 min) Acetylcholineinwirkung

2.2. Adrenerge Reaktion

2.2.1. Zur Wirkung von Adrenalin am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte

Der Einfluß von Adrenalin auf die mechanische Aktivität isolierter Detrusorpräparate wurde nach den gleichen Kriterien, wie für Acetylcholin beschrieben, auf zwei Arten untersucht.

a) Bei fortlaufender Adrenalinzugabe:

Auf Adrenalinkonzentrationen von 10^{-10} bis 10^{-9} mol/l reagierten 90% der isolierten Detrusorpräparate mit ersten Kontraktionen (Schwellenkonzentration) von durchschnittlich 0,7% ihrer Ausgangslänge.

Der Tonus kehrte nach spätestens zwei Minuten auf sein Ausgangsniveau zurück, die phasische Aktivität war nicht sichtbar beeinflußt.

Bei 10% der Präparate wurde durch Adrenalin keine eindeutige Kontraktion ausgelöst.

Hatte ein Präparat bei seiner Schwellenkonzentration reagiert, so bewirkte die nächst höhere Adrenalinkonzentration häufig keine sichtbare Reaktion.

Bei einer Adrenalinkonzentration von 10^{-8} mol/l reagierten die Präparate unterschiedlich. Die Hälfte kontrahierte sich, ein Viertel der Präparate zeigte keine Reaktion, während die restlichen bereits relaxierten und so mit einer Erniedrigung ihres Tonus reagierten (s. Abb. 7a). Eine Adrenalinkonzentration von 10^{-7} mol/l bewirkte bei allen Präparaten eine Relaxation und eine deutliche Verminderung der phasischen Aktivität unmittelbar nach Substanzzugabe. Im weiteren zeitlichen Verlauf erhöhten sich Tonus und phasische Aktivität wieder, erreichten aber ihren ursprünglichen Wert innerhalb 15 Minuten nicht. Mit steigender Adrenalinkonzentration erniedrigten sich Tonus und phasische Aktivität fortlaufend, bis schließlich bei einer Substanzkonzentration von 10^{-5} mol/l die re-

lativ größte Relaxation registriert werden konnte, die durchschnittlich fast 16% der Ausgangslänge der Präparate betrug.

Da Adrenalin in wäßriger Lösung und bei erhöhter Temperatur relativ schnell oxidiert wird, was sich bei einer 10^{-5} -molaren Lösung ca. 30 Minuten nach Transmitterzugabe als kräftige Rosafärbung des Organbades zeigte, ließ seine Wirkung auf den isolierten M. detrusor zunehmend nach, worauf dieser mit einer allmählichen Erhöhung von Tonus und phasischer Aktivität reagierte.

Nach einstündigem Auswaschen mit frischer Mc Ewen-Lösung war die Adrenalin-induzierte Wirkung voll reversibel, und eine erneute Adrenalinzugabe brachte gleiche Ergebnisse.

b) Die 2. Methode führte auch bei der Adrenalintestung zu klareren Ergebnissen. Da der isolierte M. detrusor auf Adrenalin langsamer reagiert als auf Acetylcholin, mußte die jeweilige Adrenalinkonzentration drei Minuten einwirken, um das jeweilige Reaktionsmaximum zu erreichen.

Nach Auswaschen mit Mc Ewen-Lösung kehrte der Tonus auf sein Ausgangsniveau zurück, und die phasische Aktivität erhöhte sich wieder (s. Abb. 7a).

Bei der 2. Methode war es besonders wichtig, daß alle Präparate mit der gleichen Hormonmenge pro Zeit betroffen wurden, da sich bei einem zeitlich befristeten Einwirken einer Substanz bereits Unterschiede im Reaktionseintritt und in der Reaktionsgröße zwischen Kontroll- und Testpräparat ergeben hätten. Anzahl und Menge der Tropfen pro Minute wurden deshalb wiederholt überprüft.

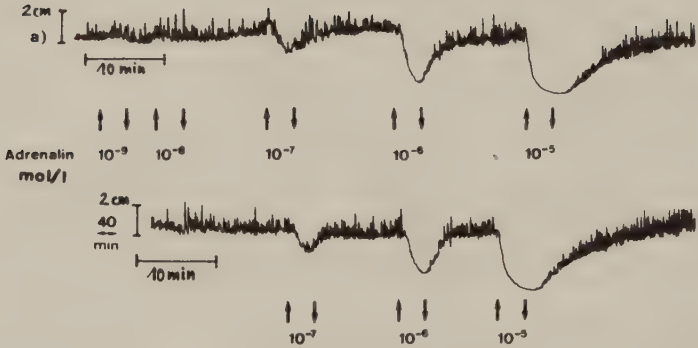
2.2.2. Zur Wirkung von Adrenalin am isolierten M. detrusor der Wistar-Ratte.

Die Reaktion des isolierten M. detrusor der Wistar-Ratte auf Adrenalin war ähnlich der Reaktion auf Acetylcholin und gegenteilig zu der bei der Sprague Dawley-Ratte beobachteten (s. Abb. 7b).

Adrenalinkonzentrationen zwischen 10^{-10} bis 10^{-9} mol/l führten erstmalig zu einer sichtbaren Kontraktion (Schwellenkonzentration). Aber mit steigender Adrenalinkonzentration wurden keine Relaxation, sondern eine fortlaufend verstärkte Kontraktion registriert. Das Reaktionsmaximum bei der jeweiligen Adrenalinkonzentration war 2 - 3 Minuten nach Adrenalinzugabe erreicht. Mit steigender Transmitterkonzentration wurde die phasische Aktivität auf dem Höhepunkt der Kontraktion immer stärker gehemmt, bis bei 10^{-5} mol/l kaum noch phasische Aktivität auftrat (s. Abb. 7b). Nach Einwirken einer 10^{-5} -molaren Adrenalinlösung kehrte der Tonus erst nach längerem Auswaschen (bis 30 min) auf sein Ausgangsniveau zurück, während sich gleichzeitig die phasische Aktivität erhöhte. Nach 40- bis 60-minütigem Auswaschen war die Adrenalin-induzierte Reaktion mit großer Übereinstimmung wiederholbar (s. Abb. 7a,b).

Detrusor vesicae (Ratte)

Sprague Dawley/Nhg.



Wistar/Nhg.

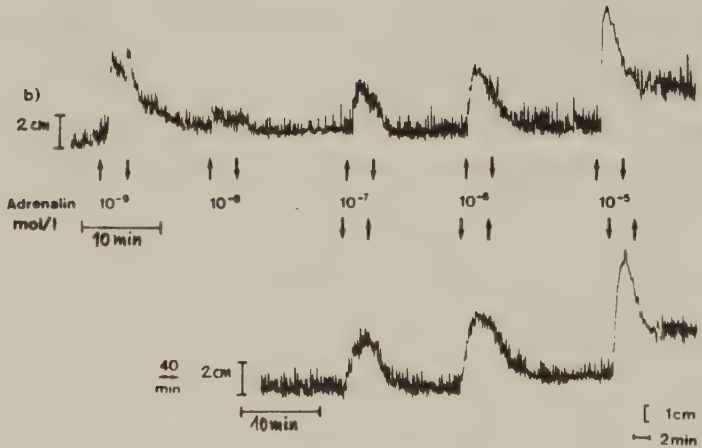


Abb. 7: Vergleichende Darstellung des Einflusses von Adrenalin auf die mechanische Aktivität des isolierten M. detrusor bei Sprague Dawley- und Wistar-Ratte:

a: Adrenalin-induzierte Relaxation des isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte; Wiederholbarkeit der Reaktion nach 40-minütigem Auswaschen mit Mc Ewen-Lösung

b: Adrenalin-induzierte Kontraktion des isolierten M. detrusor der Wistar-Ratte; Wiederholbarkeit der Reaktion nach 40-minütigem Auswaschen mit Mc Ewen-Lösung

2.3. Zum Einfluß spezifischer Rezeptor-Antagonisten auf den isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte

2.3.1. Atropin

Atropinwirkung in vitro

Der Einfluß von Atropin auf die mechanische Aktivität des isolierten M. detrusor der Ratte wurde an 8 Präparaten untersucht.

Der Versuchsablauf gestaltete sich so, daß je zwei Präparate von derselben, nicht vorbehandelten Ratte nebeneinander an die Versuchsanordnung gebracht wurden. Nach Adaptation der Präparate wurde beiden Acetylcholin in einer Konzentration von 10^{-10} bis 10^{-7} mol/l zugesetzt. Die Präparate reagierten synchron auf den Transmitterzusatz. Anschließend wurde 30 - 60 Minuten mit frischer Mc Ewen-Lösung ausgewaschen und der Ringerlösung eines Präparates Atropin in einer Konzentration von 10^{-6} mol/l zugesetzt, während das andere Präparat nur mit Mc Ewen-Lösung be-
tropft wurde und fortan als Kontrolle diente.

Atropin übte keinen sichtbaren Einfluß auf die mechanische Aktivität des isolierten M. detrusor aus, da sich während einer halbstündigen Beobachtungszeit weder die phasische Aktivität (Frequenz, Amplitude) noch der Tonus im Vergleich zur Kontrolle änderten (s. Abb. 8a).

Darauf wurde beiden Präparaten Acetylcholin zugesetzt, mit 10^{-10} mol/l beginnend bis zu einer Konzentration von 10^{-5} mol/l.

Während das Kontrollpräparat wie in 2.1. beschrieben reagierte, wurde der Acetylcholin-Einfluß auf das "atropinierte" Präparat bis zu einer Acetylcholinkonzentration von 10^{-6} mol/l gehemmt.

Bei einer Konzentration von 5×10^{-6} mol/l reagierten vier von acht atropinbehandelten Präparaten mit einer Kontraktion, die der Schwellenreaktion des Kontrollpräparates ähnlich war.

Eine Acetylcholinkonzentration von 10^{-5} mol/l führte bei allen atropinvorbehandelten Präparaten zu einer Kontraktion und somit Erhöhung ihres Tonus, während die phasische Aktivität nur teilweise gehemmt wurde.

Der hemmende Einfluß des Atropins konnte durch 40- bis 60-minütiges Auswaschen mit frischer Mc Ewen-Lösung nicht völlig aufgehoben werden, denn bei vier untersuchten Präparaten zeigte sich nach erneuter Acetylcholin-Zugabe erst eine Kontraktion bei Konzentrationen von $0,5 \times 10^{-8}$ bis 5×10^{-8} mol/l (s. Abb. 8a).

Atropinwirkung in vivo

Fünf Ratten wurde 1 mg Atropinsulfat/kg Körpergewicht intramuskulär injiziert; dies entspricht in vitro einer Konzentration von $1,4 \times 10^{-6}$ mol/l. Eine Stunde später wurde am isolierten M. detrusor dieser Tiere Acetylcholin getestet.

Sieben parallel dazu untersuchte Detrusorpräparate von Kontrollratten zeigten bei einer durchschnittlichen Acetylcholinkonzentration von $2,4 \times 10^{-10}$ mol/l erste Kontraktionen (s. Abb. 8b₁).

Die 10 Detrusorpräparate der mit Atropin vorbehandelten Ratten (Abb. 8b₂) kontrahierten sich erstmalig bei einer Acetylcholinkonzentration von $0,5 \times 10^{-8}$ bis 5×10^{-8} mol/l; die durchschnittliche Schwellenkonzentration von Acetylcholin lag bei $1,7 \times 10^{-8}$ mol/l und war somit 70 mal höher als die der Kontrollpräparate.

Auch hier konnte durch 40 Minuten langes Auswaschen mit Mc Ewen-Lösung die hemmende Atropinwirkung nicht völlig aufgehoben werden, da bei erneuter Acetylcholin-Zugabe die Schwellenkonzentration der Kontrollen nicht erreicht wurde.

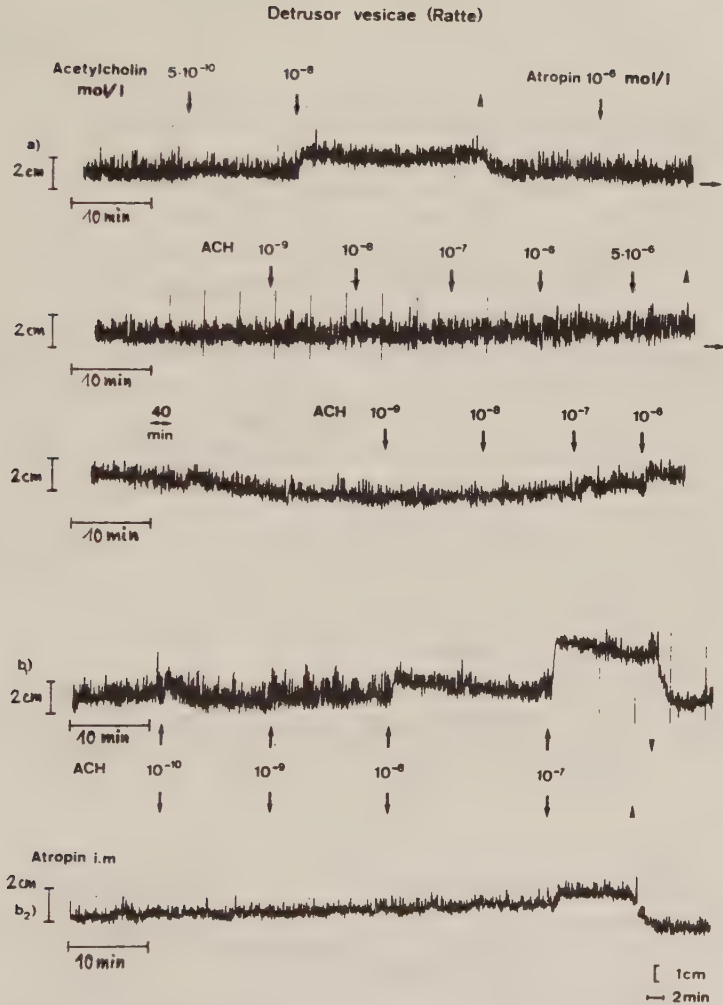


Abb. 8: Einfluß von Atropin auf die Acetylcholin-induzierte Veränderung der mechanischen Aktivität am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte:

- a: Hemmung der Acetylcholin-induzierten Tonuserhöhung durch Atropin in vitro; die hemmende Wirkung ist nach 40-minütigem Auswaschen nur teilweise reversibel
- b₁: Acetylcholin-induzierte Tonuserhöhung am Kontrollpräparat
- b₂: Hemmung der Acetylcholin-induzierten Tonuserhöhung nach intramuskulärer Prämedikation mit Atropin

2.3.2. Phentolamin

Phentolaminwirkung in vitro - M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte

Der Einfluß von Phentolamin (Regitin^R), einer spezifischen α -Rezeptoren blockierenden Substanz, wurde nach gleicher Methode, wie für Atropin beschrieben, an 10 Detrusorpräparaten untersucht.

Zu je zwei Präparaten einer unbehandelten Sprague Dawley-Ratte wurde Adrenalin in einer Konzentration von 10^{-10} bis 10^{-7} mol/l zugesetzt, um festzustellen, ob beide Präparate auf Adrenalin gleich reagierten und bei welcher Adrenalinkonzentration eine Kontraktion bzw. Relaxation eintrat.

Nach 40-minütigem Auswaschen mit frischer Mc Ewen-Lösung, die 10^{-4} mol/l Ascorbinsäure enthielt, wurde bei einem Präparat Phentolamin in einer Konzentration von 10^{-6} mol/l dem Organbad zugesetzt.

An zwei Präparaten konnte nach Phentolaminzugabe eine bis zu fünf Minuten anhaltende und deutliche Kontraktion beobachtet werden, während es bei den übrigen Präparaten zu keiner sichtbaren Beeinflussung der mechanischen Aktivität kam.

Die durch niedrige Adrenalinkonzentrationen an den Kontrollpräparaten induzierte Kontraktion konnte bei keinem der mit Phentolamin behandelten Präparate registriert werden. Sechs Testpräparate relaxierten bereits bei etwas niedrigeren Adrenalinkonzentrationen als die Kontrollpräparate. Die durchschnittliche Adrenalinkonzentration, die bei den mit Phentolamin behandelten Präparaten eine Relaxation bewirkte, lag bei $3,2 \times 10^{-8}$ mol/l und wich somit nicht signifikant vom Durchschnittswert der Kontrollen ab. Auch nach Auswaschen mit Mc Ewen-Lösung bis zu 1 Stunde konnte die kontraktionshemmende Wirkung von Phentolamin nicht völlig aufgehoben werden, so daß Adrenalin bei erneuter Zugabe zu keiner deutlichen Kontraktion führte.

Phentolaminwirkung in vivo - M. detrusor der Sprague
Dawley-Ratte

Zwei Ratten wurde Phentolamin in einer Dosis von 3,8 mg/kg Körpergewicht intramuskulär injiziert; dies entspricht in vitro einer Substanzkonzentration von 10^{-5} mol/l.

Eine Stunde später wurde am isolierten M. detrusor dieser Tiere Adrenalin getestet.

Ein Präparat kontrahierte sich bei Adrenalin von $0,5 \times 10^{-8}$ mol/l und relaxierte bei 1×10^{-7} mol/l, während sich die übrigen drei Präparate nicht kontrahierten, sondern bei einer Konzentration von $0,5 \times 10^{-7}$ mol/l relaxierten (s. Abb. 9).

Bei allen mit Phentolamin behandelten Präparaten konnte bei fortlaufender Erhöhung der Adrenalinkonzentration ein konstanter Tonus als bei den Kontrollpräparaten beobachtet werden. In zwei Fällen führte Adrenalin zu einem fortlaufend gleichmäßigen Absinken des Tonus und erschwerte damit die genaue Festlegung der Relaxationsschwelle.

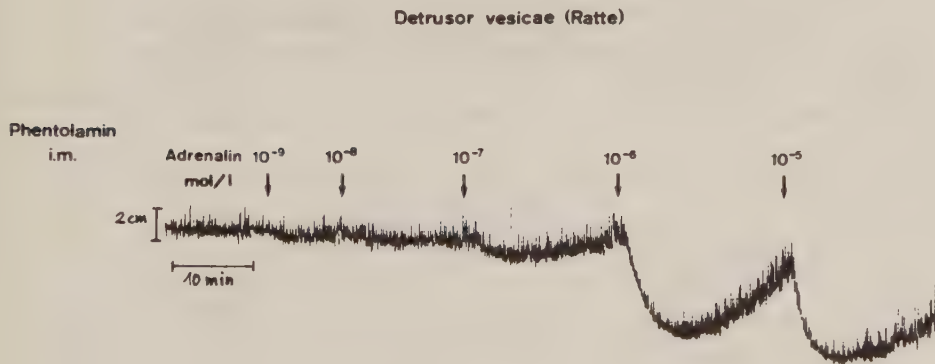


Abb. 9: Einfluß von Phentolamin auf die Adrenalin-induzierte Veränderung der mechanischen Aktivität am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte: Nach intramuskulärer Prämedikation mit Phentolamin konnte teilweise eine früher einsetzende und stärkere Relaxation bei Adrenalinzugabe beobachtet werden

2.3.3. Phentolamin - M. detrusor der Wistar-Ratte

Der Einfluß von Phentolamin wurde an 8 isolierten Detrusorpräparaten von Wistar-Ratten untersucht.

Zu jeweils zwei Präparaten einer unbehandelten Wistar-Ratte wurde Adrenalin in Konzentrationen von 10^{-9} bis 10^{-5} mol/l für 3 Minuten zugefügt; jede Konzentrationserhöhung führte zu gesteigerter Tonuserhöhung.

Nach 40 - 60 Minuten langem Auswaschen wurde einem Präparat Phentolamin in einer Konzentration von 10^{-6} mol/l zugesetzt, das andere diente als Kontrolle.

30 Minuten später wurde erneut Adrenalin in Konzentrationen von 10^{-9} bis 10^{-5} mol/l fortlaufend den Präparaten zugesetzt. Während das Kontrollpräparat nach jeder Adrenalin-Konzentrationserhöhung mit steigender Kontraktion reagierte, traten bei den mit α -Blocker inkubierten Präparaten bei Adrenalin-Konzentrationen zwischen $0,5 \times 10^{-7}$ und 10^{-7} mol/l erste, aber deutliche Relaxationen auf, die sich mit jeder weiteren Erhöhung der Adrenalin-Konzentration steigern ließen (s. Abb. 10).

Nach 40-minütigem Auswaschen mit Mc Ewen-Lösung erreichten Tonus und phasische Aktivität wieder ihren Ausgangswert. Bei erneuter Adrenalinzugabe konnte wiederum fortlaufend gesteigerte Relaxation ausgelöst werden, die Phentolaminwirkung war somit durch 40-minütiges Auswaschen nicht aufzuheben.

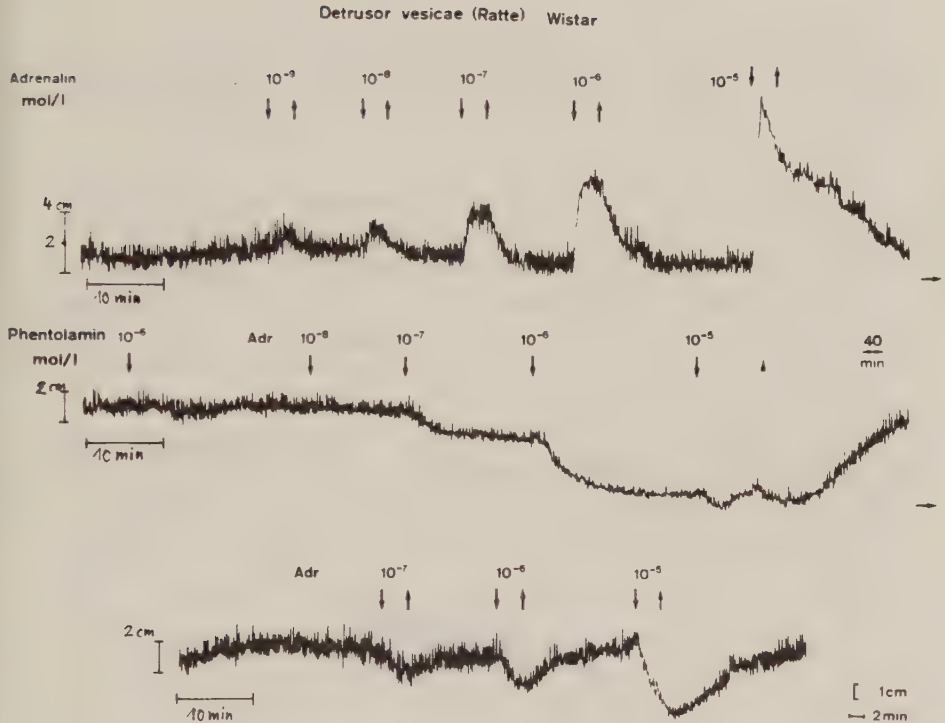


Abb. 10: Hemmender Einfluß von Phentolamin auf die Adrenalin-induzierte Kontraktion am isolierten M. detrusor der Wistar-Ratte:
Durch eine Phentolaminkonzentration von 10^{-6} mol/l wurde in vitro die Adrenalin-induzierte Kontraktion gehemmt und in eine Relaxation umgewandelt (Mitte)
Phentolamin zeigte selbst nach 40-minütigem Auswaschen noch Wirkung (unten)

2.3.4. Propranolol - M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte

Der Einfluß von Propranolol, einem Blocker adrenerger β -Rezeptoren, wurde an 6 isolierten Präparaten untersucht. Nachdem Adrenalin in den Konzentrationen von 10^{-9} bis 10^{-5} mol/l jeweils für 3 Minuten auf die Präparate einwirken konnte, wurde 40 Minuten ausgewaschen und die Reaktion auf hohe Adrenalinkonzentrationen (10^{-6} , 10^{-5} mol/l) erneut getestet. Nach erneutem 40-minütigem Auswaschen mit Mc Ewen-Lösung wurde Propranolol (Dociton^R) in einer Konzentration von 10^{-6} mol/l dem Organbad zugesetzt (s. Abb. 11).

Nach Propranololzugabe konnten weder ein stimulierender noch ein hemmender Einfluß auf die mechanische Aktivität der Präparate nachgewiesen werden. Anschließend wurde Adrenalin in Konzentrationen von 10^{-10} bis 5×10^{-5} mol/l dem Organbad zugefügt. Dabei konnten zwei unterschiedliche Reaktionsformen festgestellt werden.

Wie in Abb. 11a dargestellt, hemmte Propranolol die Relaxation bis zu einer Adrenalinkonzentration von 10^{-5} mol/l. Erst durch eine 5×10^{-5} -molare Transmitterkonzentration wurde eine deutliche Relaxation ausgelöst. Andererseits bewirkte Adrenalin erst in einer Konzentration von 10^{-6} mol/l bei 2 Präparaten eine Kontraktion, die nach 40 Minuten langem Auswaschen des β -Blockers viel deutlicher hervortrat.

Bei der in Abb. 11b dargestellten Reaktion eines Detrusorpräparates (als Beispiel für die Reaktion von 4 Präparaten) auf Adrenalin nach Propranololzugabe führt Adrenalin bei fortlaufender Konzentrationserhöhung jeweils zu einer deutlichen Kontraktion. Durch eine Adrenalin-konzentration von 10^{-6} mol/l wurde an 2 Präparaten eine biphasische Reaktion ausgelöst, d.h. nach Adrenalinzugabe trat eine kurzfristige (bis 1 min) und leichte Relaxation auf, die sofort von einer dreimal stärkeren und anhalten-deren Kontraktion abgelöst wurde.

Nach 40 Minuten langem Auswaschen mit Mc Ewen-Lösung konnte der Einfluß von Propranolol soweit aufgehoben werden, daß Adrenalin in einer Konzentration von 10^{-7} bis 5×10^{-7} mol/l zu einer deutlichen Relaxation führte (s. Abb. 11 b).

Detrusor vesicae (Ratte)

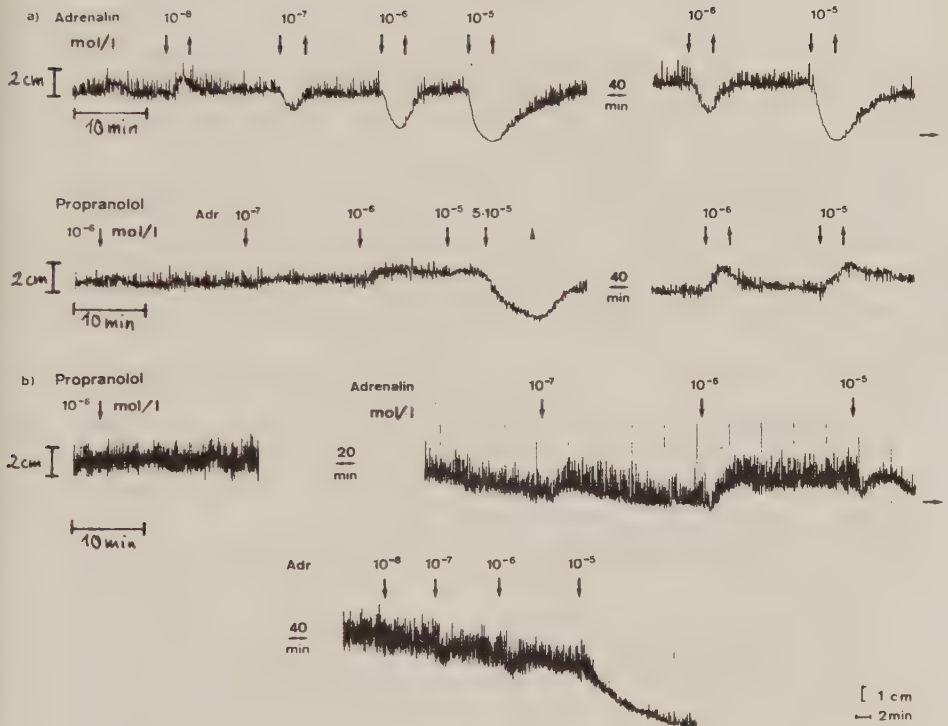


Abb. 11: Hemmende Wirkung von Propranolol in vitro auf die Adrenalin-induzierte Relaxation am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte:

- Propranolol hemmte in einer Konzentration von 10^{-6} mol/l in vitro die Relaxation des isolierten M. detrusor bis zu einer Adrenalinkonzentration von 5×10^{-5} mol/l. Nach 40-minütigem Auswaschen des β -Blockers wurde bei erneuter Adrenalinzugabe eine Kontraktion ausgelöst
- Propranolol bewirkte eine Umkehr der Adrenalinreaktion; es wurde bei jeder Adrenalinzugabe eine Kontraktion ausgelöst. Nach 40 Minuten langem Auswaschen (mit Mc Ewen-Lösung) konnte die β -rezeptorenhemmende Wirkung nur teilweise aufgehoben werden; deutliche Relaxation trat erst bei einer Adrenalinkonzentration von 10^{-5} mol/l auf

3. Akute strahleninduzierte Reaktion am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte

Isolierte Detrusorpräparate wurden mit Dosen von 5, 10, 30, 50, 100 und 200 Gy bei einer Dosisleistung von 5, 30, 60 und 200 Gy/min bestrahlt.

Die niedrigste Dosis, bei der erstmalig eine sichtbare Veränderung der mechanischen Aktivität - gemessen als Längsänderung - eintrat, wird als Schwellendosis bezeichnet und lag bei 10 - 30 Gy. Für die Schwellendosis konnte keine eindeutige Dosisleistungsabhängigkeit festgestellt werden (s. Abb. 12).

Bei fortlaufender Erhöhung der Strahlendosis war ein linearer Anstieg der Kontraktionszunahme meßbar.

Sowohl der Eintritt der Spontanreaktion bei Bestrahlung als auch das Reaktionsmaximum bei den einzelnen Strahlendosen waren von der Dosisleistung abhängig.

Bei einer Dosisleistung von 5 Gy/min konnten beispielsweise selbst bei Strahlendosen von 50 Gy keine eindeutigen Reaktionen beobachtet werden.

Eine Dosisleistung von 30 Gy/min führte 40 - 60 s nach Bestrahlungsbeginn zur Sofortreaktion, während diese bei einer Dosisleistung von 60 Gy/min bereits binnen weniger als 30 s eintrat.

Bei einer Dosisleistung von 200 Gy/min wurde zwar meist eine sofortige Reaktion der Präparate registriert, die Schwellendosis lag auch hier über 10 Gy. Ferner konnte bei einer Dosisleistung von 200 Gy/min im Vergleich zu 60 Gy/min keine wesentliche Steigerung der Maximalreaktion bei den einzelnen Strahlendosen festgestellt werden.

Daraus ist zu schließen, daß sich die Latenzzeit zwischen Exposition und Reaktion sowohl dosis- als auch dosisleistungsabhängig verkürzt, aber zur Auslösung einer Reaktion eine Mindestexpositionszeit nötig ist.

Die einzelnen Detrusorpräparate reagierten auf Bestrahlung mit unterschiedlichen Reaktionsmustern (s. Abb. 13).

Während bei einigen Präparaten die phasische Aktivität - unabhängig von ihrer Ausgangsaktivität - selbst nach hohen Strahlendosen (100 Gy) nicht sichtbar beeinflusst wurde, zeigte sich bei anderen auf dem Höhepunkt der Kontraktion eine deutliche Hemmung der Spontanaktivität.

Wurde die Bestrahlung mit niedrigen Dosen (10 Gy) begonnen und laufend erhöht, so kehrten die Präparate nach der strahleninduzierten Kontraktion meist wieder auf den Ausgangstonus zurück. Eine permanente Tonuserhöhung konnte erst ab höheren Strahlendosen, oder wenn bereits die Erstbestrahlung mit hoher Dosis durchgeführt wurde, beobachtet werden. So führte die wiederholte Bestrahlung mit steigender Dosis bei 50% der Präparate zu laufender Tonuserhöhung bis zum Stadium der "Tachyphylaxie", um teilweise in eine irreversible Relaxation überzugehen.

Bei 25% der Präparate führten selbst hohe Strahlendosen zu keiner permanent ansteigenden Tonuserhöhung. Die restlichen Präparate reagierten sehr unterschiedlich auf Bestrahlung. Trotz guter Spontanaktivität konnte bei einigen auch mit hohen Strahlendosen nur eine schwache Kontraktion ausgelöst werden (s. Abb. 14a).

Bei gleicher Strahlendosis konnte bei einer Dosisleistung von 60 Gy/min fast eine eineinhalbfach stärkere Reaktion als mit einer Dosisleistung von 30 Gy/min bewirkt werden, während bei einer Dosisleistung von 200 Gy/min keine wesentliche Steigerung der Maximalkontraktion auszulösen war.

TABELLE 1:

Prozentuale Längenänderung des isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte nach in vitro Bestrahlung mit einer Dosisleistung (DL) von 30 Gy/min bzw. 60 Gy/min und Strahlendosen von 10 bis 200 Gy

	30 Gy/min				60 Gy/min				
Dosis (Gy)	10	30	50	100	10	30	50	100	200
n	8	8	12	10	7	8	11	15	15
$\bar{x}$ (%)	0,4	1,4	2,0	2,8	0,6	2,0	3,0	4,2	5,3
s (+)	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,3	0,3	0,4

n: Anzahl der Präparate

$\bar{x}$: Durchschnittliche Längenänderung in %

s (+): Standardabweichung

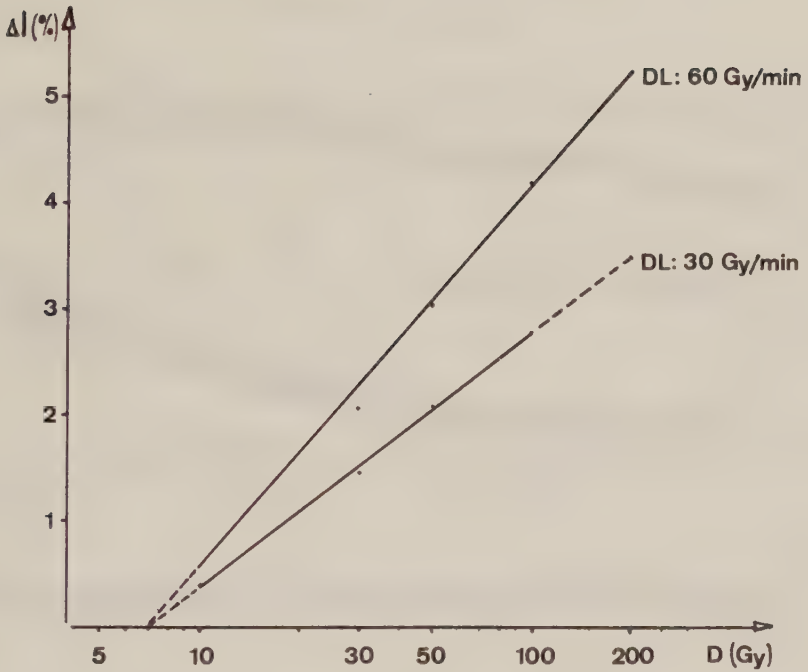


Abb. 12: Durchschnittliche prozentuale Längenänderung des isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte nach in vitro-Bestrahlung in Abhängigkeit von Strahlendosis (D) und Dosisleistung (DL)

Detrusor vesicae (Ratte)

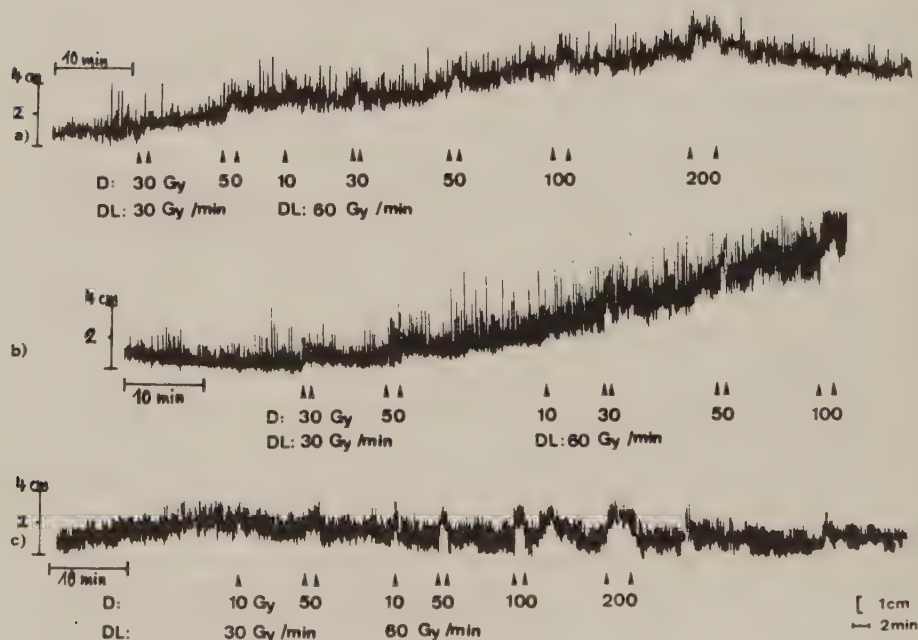


Abb. 13: Einfluß von Bestrahlung in vitro auf die mechanische Aktivität des isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte, in Abhängigkeit von Dosis (D) und Dosisleistung (DL):

- a: Auf wiederholte Bestrahlung mit steigenden Strahlendosen reagiert der isolierte M. detrusor mit einer steten Tonuszunahme; die phasische Aktivität wird nicht sichtbar beeinflusst
- b: Durch in vitro-Bestrahlung wird eine Zunahme der phasischen Aktivität (Amplitude) und des Tonus bewirkt
- c: Bei in vitro-Bestrahlung ist die phasische Aktivität (Amplitude) nur auf dem Höhepunkt der Kontraktion vermindert; der Tonus ist nur während der Strahlenexposition erhöht und kehrt anschließend wieder auf sein Ausgangsniveau zurück. Die Tonuserhöhung ist dosisabhängig, der Reaktionseintritt dosisleistungsabhängig

Detrusor vesicae (Ratte)

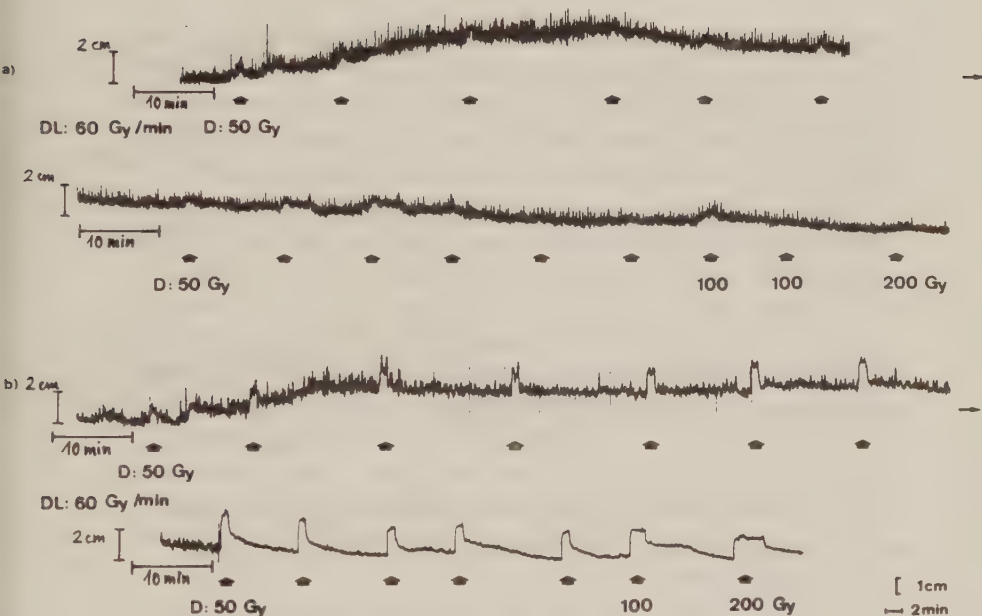


Abb. 14: Einfluß von wiederholter in vitro-Bestrahlung mit konstanter Dosis (D) und Dosisleistung (DL) auf die mechanische Aktivität des isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte:

- Der spontanaktive isolierte M. detrusor reagiert auf wiederholte Strahlenexposition mit einer un deutlichen Tonuserhöhung und ist nach einer Gesamtstrahlendosis von 800 Gy im Stadium der "Tachyphylaxie", die selbst von hohen Strahlen-dosen (200 Gy) nicht überwunden wird
- Nach vorausgegangener lokaler Bestrahlung in vivo (mit 25 Gy) reagiert der isolierte M. detrusor auf wiederholte Bestrahlung in vitro mit einer stärkeren Tonuserhöhung. Die wiederholte Bestrahlung verursacht eine deutliche Abnahme der phasischen Aktivität, die noch vor der tonischen er-löscht

3.1. Sofortreaktion des M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte bei wiederholter Exposition in Abhängigkeit von Strahlendosis und Dosisleistung

Die Sofortreaktion des isolierten M. detrusor ist auch bei wiederholter Bestrahlung strahlendosis- und dosisleistungsabhängig, wie sich aus den folgenden Versuchen ergibt.

Bei konstanter Strahlendosis von 100 Gy wurden jeweils 5 Präparate mit einer Dosisleistung von 30 bzw. 60 Gy/min im zeitlichen Intervall von 20 Minuten wiederholt bestrahlt.

Während die Reaktion auf die ersten drei Bestrahlungen meist gleich war, trat nach der 4. Bestrahlung eine deutliche Abnahme der Sofortkontraktion und der phasischen Aktivität ein; nach 8 bis 12 Bestrahlungen traten keine Kontraktion und kaum noch Spontanaktivität auf. Selbst eine anschließende Bestrahlung mit doppelter Dosis (200 Gy) konnte nur noch in zwei Fällen eine leichte Reaktion hervorrufen. Außerdem zeigte sich, daß nach wiederholter Bestrahlung mit gleicher Dosis aber doppelter Dosisleistung die Präparate früher das Stadium der irreversiblen Schädigung erreichten.

Eine weitere Gruppe von fünf Präparaten wurde mit einer Dosisleistung von 60 Gy/min und einer Strahlendosis von 200 Gy im zeitlichen Abstand von 40 Minuten wiederholt bestrahlt, so daß im Vergleich zu den vorherigen Gruppen jeweils die gleiche Gesamtdosis pro Zeit verabreicht wurde.

Hier war die Sofortreaktion nur bei den ersten beiden Bestrahlungen gleich groß. Nach der 6. bis 9. Bestrahlung waren die Präparate ebenfalls im Zustand der "Tachyphylaxie".

Auch die wiederholte Bestrahlung mit gleicher Strahlendosis und Dosisleistung erbrachte deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Präparaten, so daß die Gesamtstrahlendosis, die zur irreversiblen Schädigung der Präparate führte, zwischen 800 und 1800 Gy angesetzt werden muß.

Erfolgte die wiederholte Bestrahlung mit hohen Strahlendosen in noch kürzeren Zeitabständen, so trat die irreversible Hemmung der Spontanaktivität und der Sofortreaktion bei noch niedrigerer Gesamtdosis auf.

Detrusor vesicae (Ratte)

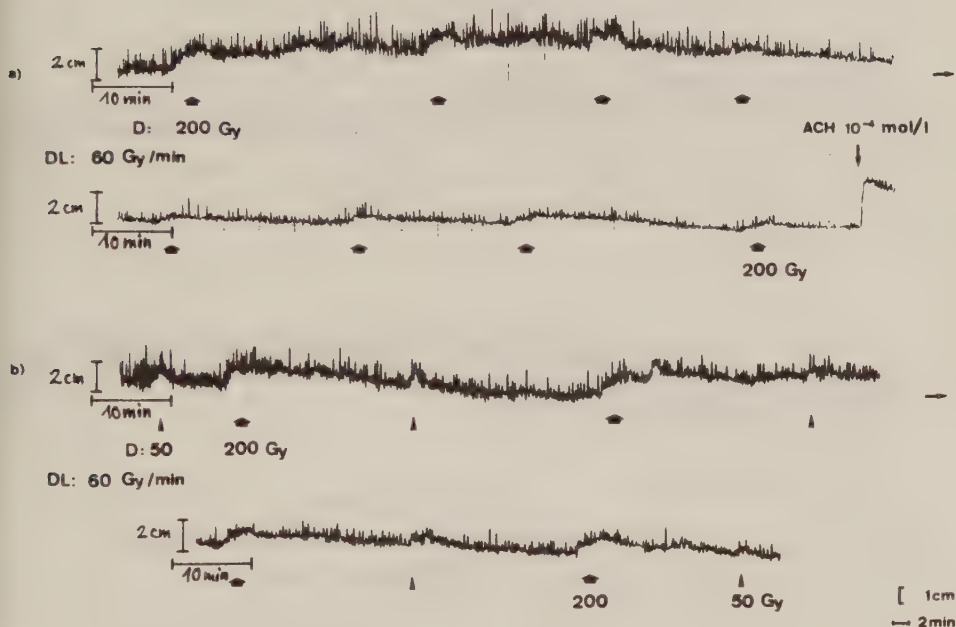


Abb. 15: Einfluß von wiederholter in vitro-Bestrahlung auf die mechanische Aktivität des isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte:

- a: Nach wiederholter Bestrahlung mit konstanter Dosis (D: 200 Gy) und Dosisleistung (DL: 60 Gy/min) tritt eine deutliche Abnahme der phasischen Aktivität und der spontanen Kontraktion auf Bestrahlung ein. Nach einer Gesamtdosis von 1600 Gy ist die Spontanaktivität des Präparates fast erloschen; Acetylcholin (10^{-4} mol/l) führt noch zu einer Tonuserhöhung
- b: Wiederholte Bestrahlung mit 50 (▲) und 200 (●) Gy bei konstanter Dosisleistung (60 Gy/min) bewirkt eine dosisabhängige Tonuserhöhung. Die mechanische Aktivität wird mit zunehmender Gesamtstrahlendosis gehemmt

3.2. Zur Reaktion von in vivo bestrahlten Harnblasen der Sprague Dawley-Ratte auf zusätzliche Bestrahlung in vitro

Von fünf isolierten Detrusorpräparaten, die in vivo 8 - 14 Tage vor der Untersuchung bereits mit 25 Gy lokal bestrahlt worden waren, zeigten vier eine deutlich gesteigerte Sensibilität auf in vitro Bestrahlung. Die Schwelendosis war im Vergleich zu den nicht vorbestrahlten Präparaten niedriger und die Maximalreaktion bei den einzelnen Strahlendosen deutlich höher (s. Abb. 14b).

3.3. Zum Einfluß der in vitro Bestrahlung auf die cholinerge und adrenerge Ansprechbarkeit des isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte

3.3.1. Acetylcholin

An 11 isolierten Detrusorpräparaten von nicht vorbehandelten Ratten wurde Acetylcholin in Konzentrationen von 10^{-10} bis 10^{-7} mol/l getestet. Die einzelnen Konzentrationen konnten, im Abstand von 10 Minuten jeweils um das 10-fache erhöht, für zwei Minuten auf die Präparate einwirken. Dazwischen wurde mit Mc Ewen-Lösung ausgewaschen.

Die Konzentration von 10^{-7} mol/l wurde 2 - 3 mal zugefügt, um die Wiederholbarkeit und Gleichmäßigkeit der Reaktion zu testen. Nach 40-minütigem Auswaschen wurde bei einer Dosisleistung von 60 Gy/min mit Strahlendosen von 50 bzw. 100 Gy bestrahlt.

Durch den vorausgegangenen Acetylcholin-Test wurde die strahleninduzierte Sofortreaktion nicht beeinflusst, während durch die Strahlenexposition bei 8 Präparaten ein sichtbarer Einfluß auf die Acetylcholin-Schwelle ausgeübt wurde.

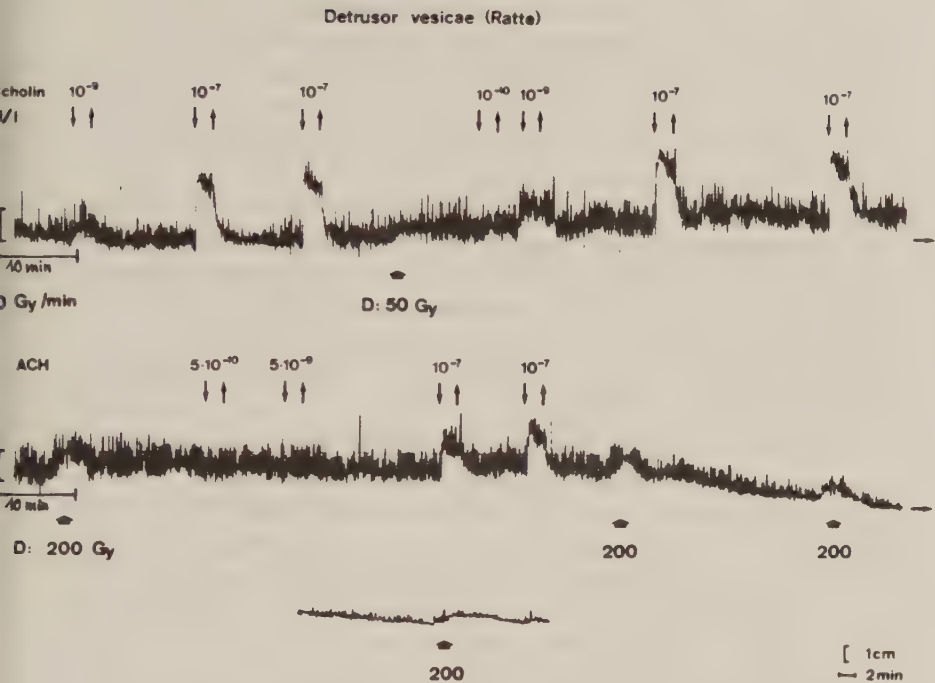


Abb. 16: Einfluß von in vitro-Bestrahlung auf die Acetylcholinwirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte:
 Nach Bestrahlung mit 50 Gy tritt eine länger-anhaltende und stärkere Kontraktion auf niedrige Acetylcholinkonzentrationen (10^{-9} mol/l) ein; die Kontraktion nach höheren Acetylcholinkonzentrationen (10^{-7} mol/l) war nicht gesteigert.
 Nach Bestrahlung mit einer Gesamtstrahlendosis von 250 - 400 Gy war die Reaktion (Kontraktion) auf niedrige Acetylcholinkonzentrationen völlig gehemmt, die auf höhere Transmitterkonzentrationen (10^{-7} mol/l) deutlich vermindert (35 - 50%)

Nach der Strahlenexposition war die von niedrigen Acetylcholinkonzentrationen (10^{-10} , 10^{-9} mol/l) bewirkte Kontraktion deutlich stärker und länger anhaltend als vor der Bestrahlung. Bei höheren Acetylcholinkonzentrationen (10^{-7} mol/l) war keine Steigerung der Kontraktion durch Bestrahlung zu bewirken (s. Abb. 16).

Bei drei Präparaten hatte die einmalige Bestrahlung mit 50 Gy keine Änderung der Acetylcholin-Wirkung zur Folge.

Durch einmalige Bestrahlung mit 50 bzw. 100 Gy wurde die Ansprechbarkeit auf niedrige Acetylcholinkonzentrationen bei 8 von 11 Präparaten erhöht, während bei höheren Acetylcholinkonzentrationen keine weitere Steigerung zu verzeichnen war (s. Tab. 2).

Daraufhin wurde erneut mit einer Dosisleistung von 60 Gy/min und einer Dosis von 200 Gy bestrahlt.

30 Minuten später wurde wieder Acetylcholin getestet.

Sechs von elf Präparaten zeigten auf Acetylcholinkonzentrationen von 10^{-10} bis 5×10^{-9} mol/l keine Reaktion, d.h. Tonus und phasische Aktivität wurden nicht verändert (s. Abb. 16). Bei 3 Präparaten war die Reaktion fraglich, während sich 2 Präparate deutlich kontrahierten.

Erst durch eine Acetylcholinkonzentration von 10^{-8} mol/l konnte bei 7 Präparaten eine leichte Kontraktion hervorgerufen werden.

Bei 8 Präparaten war nach Bestrahlung mit einer Gesamtdosis von 250 - 300 Gy die Reaktion (Kontraktion) auf 10^{-7} mol Acetylcholin pro l um mehr als 40% vermindert; auch die Spontanaktivität nahm bis zum völligen Erlöschen ab.

Nach Bestrahlung mit einer Gesamtdosis von 450 bis 500 Gy war die von einer 10^{-7} -molaren Acetylcholinkonzentration bewirkte Kontraktion bei 7 Präparaten um 60% vermindert, bei 4 Präparaten um 40% (s. Tab. 2).

Kurze Zusammenfassung: Niedrige Strahlendosen bewirkten eine Reaktionsverstärkung auf niedrige Acetylcholin-konzentrationen, hohe Strahlendosen eine völlige Hemmung. Die von hohen Acetylcholinkonzentrationen induzierte Kon-traktion wurde nur durch hohe Strahlendosen gehemmt.

TABELLE 2: Einfluß von in vitro-Bestrahlung auf die Ace-tylcholinwirkung am isolierten M. Detrusor der Sprague Dawley-Ratte in Abhängigkeit von Strahlendosis (D) und Dosisleistung (DL: 60 Gy/min)

Konzentration (mol/l)	n 10^{-9}	n 10^{-8}	n 10^{-7}
vor Exposition	11 ++	11 ++	11 ++
50 Gy	3 ++ 8 +++	7 ++ 4 +++	11 ++
250 Gy	6 / 3 ? 2 +	2 / 2 ? 7 +	8 +(40%) 2 +(20%) 1 +(10%)
450 Gy	11 /	9 / 2 ?	7 +(60%) 4 +(40%)

n: Anzahl der Präparate

++: durchschnittliche Kontraktion

+++ : Kontraktionsverstärkung

+: Kontraktionsverminderung (in % der Ausgangslänge)

?: fragliche Reaktion

/: keine Kontraktion

Detrusor vesicae (Ratte)

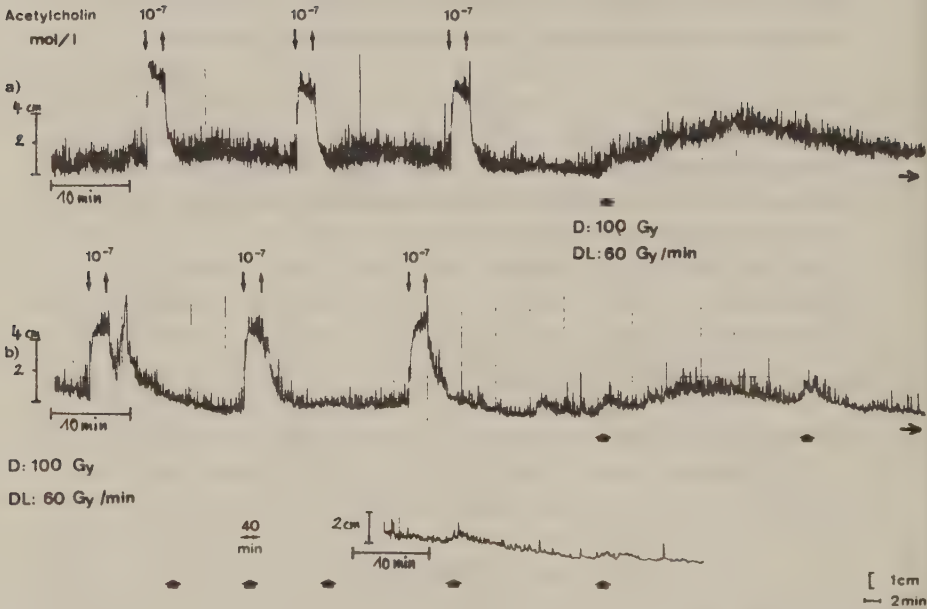


Abb. 17: Einfluß von in vitro-Bestrahlung auf die Acetylcholinwirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte:
Nach einmaliger Bestrahlung mit 100 Gy in vitro war die von hohen Acetylcholinkonzentrationen (10⁻⁷ mol/l) bewirkte Tonuserhöhung unverändert; der Tonus kehrte aber verzögert auf sein Ausgangsniveau zurück, die phasische Aktivität nahm ab.
Nach wiederholter Strahlenexposition (☛) tritt völlige Hemmung der mechanischen Aktivität ein

3.3.2. Adrenalin

Der Versuchsablauf war analog dem für Acetylcholin beschriebenen. Im 3-Minutentest reagierten bei einer Adrenalinkonzentration von 10^{-9} mol/l 7 von 9 Präparaten mit einer Kontraktion von durchschnittlich 1% ihrer Länge.

Eine Adrenalinkonzentration von 10^{-6} mol/l führte bei 2 - 3 maliger Wiederholung in 10-minütigem Abstand jeweils zu einer durchschnittlichen Relaxation der Präparate bis 8% ihrer Ausgangslänge für die Dauer von 3 - 5 Minuten.

Nach einmaliger Bestrahlung mit 50 - 100 Gy bei einer Dosisleistung von 60 Gy/min war bei 7 Präparaten keine eindeutige Sensibilitätsänderung auf niedrige Adrenalinkonzentrationen (10^{-9} mol/l) festzustellen, d.h. die Schwellenkonzentration war unverändert; zwei Präparate kontrahierten sich deutlich.

Bei einer Adrenalinkonzentration von 10^{-6} mol/l war die Reaktion von fünf Präparaten biphasisch, d.h. nach einer kurzfristigen (1 min) Kontraktion von ca. 2% der Präparatlänge folgte eine dominierende Relaxation von 5% für zwei bis drei Minuten, die somit im Vergleich zur Reaktion vor der Bestrahlung deutlich zeitlich verkürzt und abgeschwächt war. Bei 4 Präparaten konnte keine unterschiedliche Reaktion auf Adrenalin nach einmaliger Bestrahlung mit 50 - 100 Gy ermittelt werden.

Nach weiterer Bestrahlung mit einer Dosis von 200 Gy bewirkten niedrige Adrenalinkonzentrationen (10^{-10} - 10^{-8} mol/l) keine Änderung der mechanischen Aktivität. Hohe Konzentrationen (10^{-6} mol/l) bewirkten bei 3 Präparaten eine reine Kontraktion von durchschnittlich 4% ihrer Länge, die bis zu 6 Minuten anhielt. Drei Präparate relaxierten kurzfristig und kontrahierten sich dann. Die restlichen 3 Präparate reagierten deutlich biphasisch; auf eine sofort eintretende Relaxation bis 3% der Präparatlänge folgte eine Kontraktion bis 3,5% (s. Abb. 18).

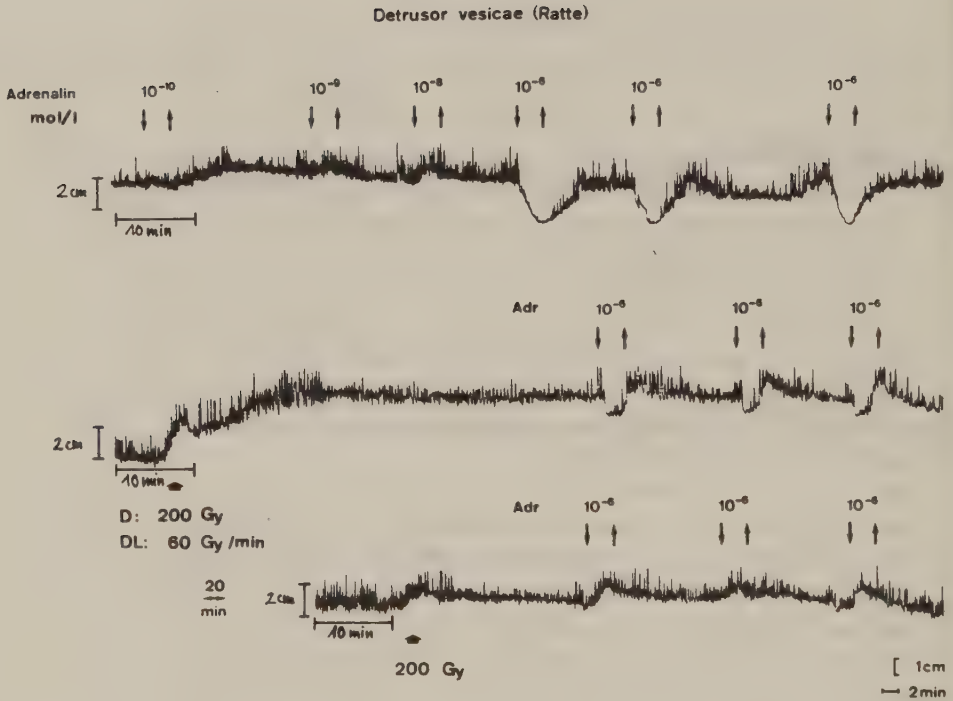


Abb. 18: Einfluß von in vitro-Bestrahlung auf die Adrenalinwirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte:

Bestrahlung mit 200 Gy wandelt die Adrenalin-induzierte Relaxation in eine biphasische Reaktion um (Mitte).
Nach einer Gesamtstrahlenexposition von 400 Gy tritt vollständige Umkehr der Adrenalin-induzierten Reaktion ein (unten)

Kurze Zusammenfassung: Nach Bestrahlung bis 100 Gy änderte sich die Reaktion auf niedrige Adrenalinkonzentrationen kaum, während von höheren Adrenalinkonzentrationen ($>10^{-6}$ mol/l) noch überwiegend eine Relaxation ausgelöst wurde. Eine Gesamtdosis bis 400 Gy hatte einen Reaktionsverlust bei niedrigen Adrenalinkonzentrationen zur Folge, während bei 10^{-6} mol/l eine deutliche und anhaltende Kontraktion und somit eine Umkehr der Adrenalinwirkung registriert werden konnte. Bei 4 Präparaten konnte durch eine Adrenalinkonzentration von 10^{-5} mol/l eine Relaxation ausgelöst werden.

TABELLE 3: Einfluß von in vitro-Bestrahlung auf die Adrenalinwirkung am isolierten M. Detrusor der Sprague Dawley-Ratte in Abhängigkeit von Strahlendosis (D) und Dosisleistung (DL: 60 Gy/min)

Konzentration (mol/l)	n 10^{-9}	n 10^{-6}	n 10^{-5}
vor Exposition	7 +	9 -	
100 Gy	2 + 7 ?	5 + 4 -	
300-400 Gy	9 /	6 + 3 +	4 -

n: Anzahl der Präparate
+: Kontraktion
+: biphasische Reaktion

-: Relaxation
?: fragliche Reaktion
/: keine Reaktion

4. Zum Einfluß der lokalen Bestrahlung der Harnblase in vivo auf die mechanische Aktivität und die Ansprechbarkeit auf Transmitter am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte

Bestrahlt wurde, wie in der METHODIK beschrieben, mit einer Dosisleistung von 4,1 Gy/min und jeweils einer einmaligen Strahlendosis von 50 Gy, 25 Gy bzw. 10 Gy. Der Einfluß einer einmaligen Bestrahlung wurde unmittelbar, 1 Tag, 7 Tage, 14 Tage und 35 - 40 Tage nach Exposition untersucht.

Nach lokaler Bestrahlung mit 25 Gy bzw. 50 Gy konnte bei der Mehrzahl der untersuchten Präparate - unabhängig vom Untersuchungszeitpunkt - ein beständigerer Tonus als bei den Kontrollpräparaten festgestellt werden, während Amplitude und Frequenz der phasischen Kontraktionen nicht sichtbar beeinflusst wurden. Die bei fast jedem Kontrollpräparat während des Versuchs auftretende plötzliche Kontraktion konnte bei den bestrahlten Präparaten nur in einigen Fällen und in deutlich abgeschwächter Form beobachtet werden.

4.1. Zum Einfluß der lokalen Bestrahlung mit 50 Gy in vivo auf die Acetylcholin-Wirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte

a) Der Einfluß der lokalen Bestrahlung auf die Acetylcholin-Sensibilität wurde an 8 Präparaten unmittelbar (bis 2 h) nach Bestrahlung untersucht. Dabei wurde Acetylcholin in einer Konzentration von 10^{-10} mol/l bis 10^{-5} mol/l der Ringerlösung zugesetzt. Die durchschnittliche Schwellenkonzentration aller Kontrollpräparate (33) lag bei 2,3 x 10^{-10} mol/l. Die bestrahlten Präparate zeigten erste Kontraktionen bei Acetylcholinkonzentrationen zwischen

10^{-9} und 5×10^{-9} mol/l, durchschnittlich bei $2,2 \times 10^{-9}$ mol/l. Die durchschnittliche Acetylcholin-Schwelle der dazu untersuchten Kontrollgruppe (6 Präparate) lag bei $1,6 \times 10^{-10}$ mol/l (s. Tab. 4).

Die Schwellenkonzentration der bestrahlten Präparate war somit 9,6 mal höher als die der Gesamtkontrollen.

b) Neun Detrusorpräparate von Ratten, die 1 Tag nach lokaler Bestrahlung untersucht wurden, reagierten auf Acetylcholinkonzentrationen von durchschnittlich $2,5 \times 10^{-9}$ mol/l mit ersten Kontraktionen.

Die Acetylcholinschwelle dieser Bestrahlungsgruppe war 11 mal höher als die der Gesamtkontrollen.

c) Sieben Tage nach lokaler Bestrahlung konnte an 7 Präparaten eine durchschnittliche Schwellenkonzentration für Acetylcholin von $2,7 \times 10^{-9}$ mol/l ermittelt werden; sie war somit 11,7 mal höher als die aller Kontrollen.

d) Auch 14 Tage post radiationem war die Sensibilität auf Acetylcholin an 9 untersuchten Präparaten deutlich niedriger als bei den Kontrollen und lag bei durchschnittlich $3,1 \times 10^{-9}$ mol/l. Verglichen mit den Kontrollen war die Schwellenkonzentration somit 13,5 mal höher.

e) Die genannten Unterschiede konnten auch 35 - 40 Tage nach Bestrahlung an 10 Präparaten festgestellt werden. Die durchschnittliche Schwellenkonzentration von Acetylcholin, die erste mechanische Veränderungen bewirkte, lag bei 4×10^{-9} mol/l und war daher 17,4 mal höher als die der Kontrollen.

Kurze Zusammenfassung: An 33 Kontrollpräparaten und an 43 Präparaten von lokal bestrahlten Harnblasen wurde die Reaktion auf Acetylcholin getestet.

Die zu den einzelnen Bestrahlungsgruppen untersuchten

Kontrollgruppen reagierten bei durchschnittlichen Acetylcholinkonzentrationen von $1,6 \times 10^{-10}$ bis $3,0 \times 10^{-10}$ mol/l (s. Tab. 4).

Für die in vivo lokal bestrahlten Ratten, die in fünf Zeitabschnitten nach Strahlenexposition untersucht wurden, waren abhängig vom Untersuchungszeitpunkt 9,6 - 17,4 mal höhere Acetylcholinkonzentrationen nötig, um erste mechanische Sofortreaktionen hervorzurufen (Tab. 4, Abb. 20 und 21). Die Schwellenkonzentrationen aller Bestrahlungsgruppen waren signifikant höher als die der Kontrollgruppe ($p < 0,0002$).

Wie aus der Konzentrations-Wirkungs-Kurve ersichtlich ist (Tab. 5, Abb. 22 u. 23), besteht zwischen bestrahlten Präparaten und Kontrollpräparaten auch ein deutlicher Unterschied in der maximalen Tonuserhöhung auf Acetylcholin.

4.2. Zum Einfluß der lokalen Bestrahlung mit 25 Gy in vivo auf die Acetylcholin-Wirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte

Detrusorpräparate von Ratten, deren Harnblase mit 25 Gy lokal bestrahlt worden waren, wurden 1 Tag, 7 Tage und 14 Tage nach der Exposition auf ihre Acetylcholin-Sensibilität hin getestet.

Die durchschnittliche Schwellenkonzentration von Acetylcholin lag:

- a) 1 Tag nach Bestrahlung bei $0,8 \times 10^{-9}$ mol/l,
- b) 7 Tage nach Exposition bei $1,2 \times 10^{-9}$ mol/l und
- c) 14 Tage nach Exposition bei $1,7 \times 10^{-9}$ mol/l.

Es zeigte sich, daß auch nach Bestrahlung mit 25 Gy zeitabhängige Sensibilitätsunterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe bestanden, deren durchschnittliche Schwellenkonzentration bei $2,3 \times 10^{-10}$ mol/l lag (s. Abb. 21).

Die Acetylcholin-Schwelle der durch Bestrahlung vorbereiteten Präparate war somit 3,5 bis 7,4 mal höher und unterschied sich signifikant ($p = 0,01$ bzw. $0,0005$) von den Kontrollen.

Detrusor vesicae (Ratte)

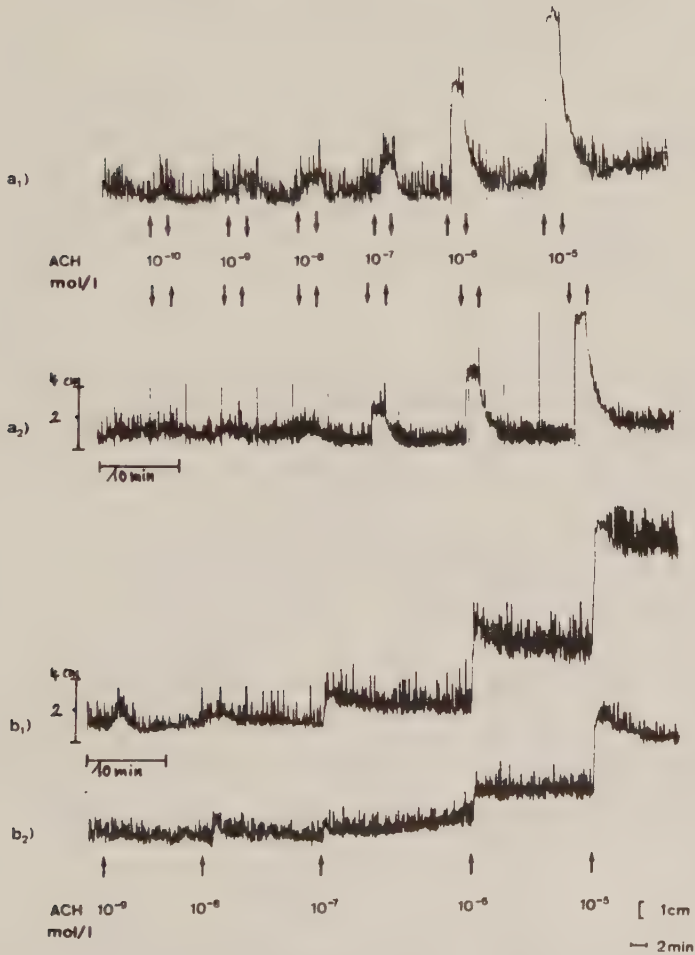


Abb. 19: Einfluß von lokaler Röntgenbestrahlung mit 50 Gy auf die Acetylcholinwirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte:

a: Die einzelnen Acetylcholinkonzentrationen konnten jeweils für 2 min auf die Präparate einwirken. Die Schwellenkonzentration des Kontrollpräparates (a₁) ist niedriger, die maximale Kontraktion bei jeder Acetylcholinkonzentration ist höher als beim bestrahlten Präparat (a₂: 14 Tage nach Exposition)

b: Bei kumulativer Acetylcholineinwirkung zeigt das Kontrollpräparat (b₁) eine frühere und stärkere Reaktion als das Präparat (b₂: 14 Tage nach Strahlenexposition)

4.3. Zum Einfluß der lokalen Bestrahlung mit 10 Gy in vivo auf die Acetylcholin-Wirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte

Einen Tag nach lokaler Harnblasenbestrahlung mit einer Strahlendosis von 10 Gy wurde an 4 isolierten Präparaten eine durchschnittliche Schwellenkonzentration für Acetylcholin von $4,5 \times 10^{-10}$ mol/l ermittelt, die somit im Variationsbereich der Kontrollpräparate lag und sich von diesen nicht signifikant unterschied.

TABELLE 4: Darstellung der durchschnittlichen Schwellenkonzentration von Acetylcholin am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte in Abhängigkeit von der Strahlendosis und dem Untersuchungszeitpunkt (nach lokaler Bestrahlung)

(SK: Schwellenkonzentration, n: Anzahl der Präparate, n. Exp.: nach Exposition, *: signifikanter Unterschied zur Gesamtkontrolle [n = 33])

Kontrolle		Bestrahlung						
SK (nmol/l)	n	SK	50 Gy		25 Gy		10 Gy	
			n	SK	n	SK	n	SK
Zeit n.Exp. bis 2 h	6	0,16 +0,10	8	2,20* +1,40				
	6	0,23 +0,15	9	2,50* +1,60	5	0,80* +0,20	4	0,40 +0,20
1 Tag	7	0,24 +0,14	7	2,70* +1,70	7	1,24* +0,70		
7 Tage	7	0,18 +0,15	9	3,10* +2,20	5	1,70* +1,00		
14 Tage	7	0,30 +0,18	10	4,00* +3,0				
35-40 Tage	33	0,23 +0,16						

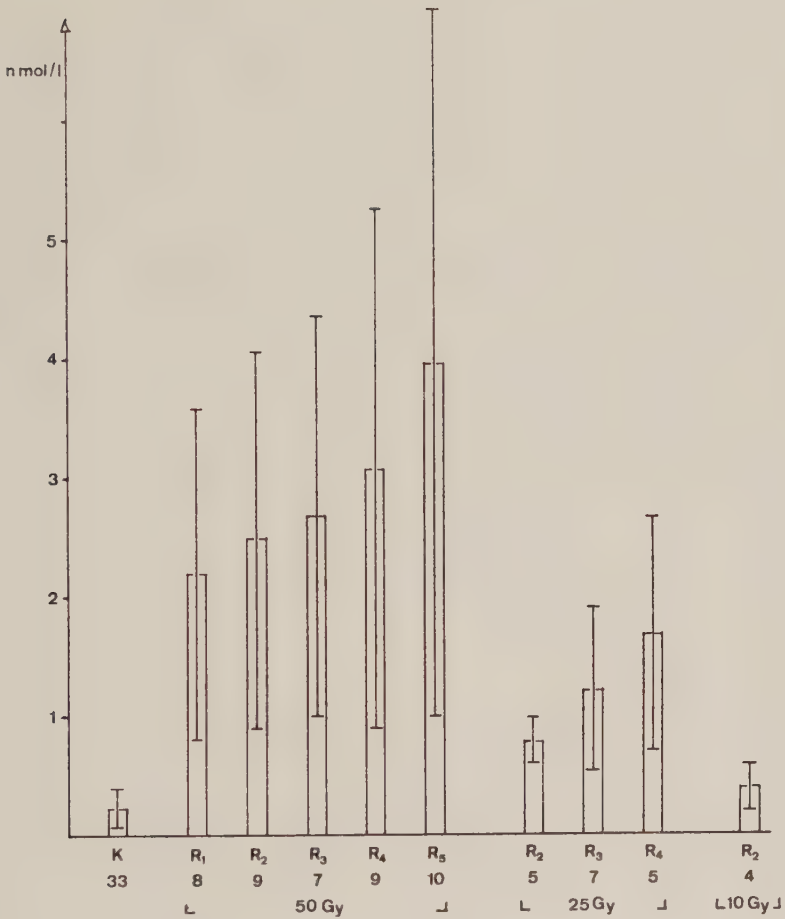


Abb. 20: Darstellung der durchschnittlichen Schwellenkonzentration von Acetylcholin am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte nach lokaler Bestrahlung in Abhängigkeit von Strahlendosis und Untersuchungszeit:

Abszisse: Anzahl der Präparate pro Untersuchungsgruppe

Ordinate: Durchschnittliche Schwellenkonzentration von Acetylcholin und Standardabweichung (in nmol/l)

K: Kontrollpräparate

R: Untersuchungszeitpunkt nach Strahlenexposition

R₁: bis 2 h; R₂: 1 d; R₃: 7 d; R₄: 14 d;

R₅: 35-40 d

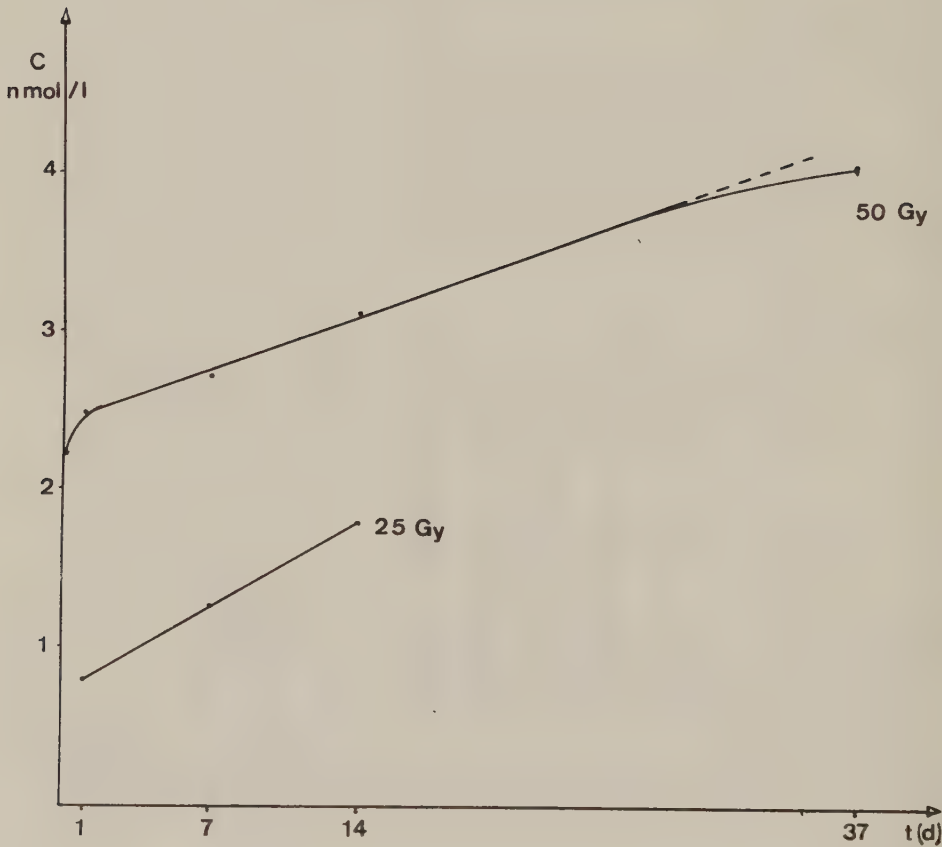


Abb. 21: Darstellung der durchschnittlichen Schwellenkonzentrationserhöhung von Acetylcholin am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte nach lokaler Bestrahlung in Abhängigkeit von Strahlendosis und Untersuchungszeit:

Abszisse: Untersuchungszeit nach Strahlenexposition (in Tagen)

Ordinate: Durchschnittliche Schwellenkonzentration (in nmol/l)

TABELLE 5: Prozentuale Längenänderung des isolierten M. detrusor vesicae der Sprague Dawley-Ratte nach Acetylcholin-Zugabe

(n: Anzahl der Präparate; $\bar{x}$: durchschnittliche Längenänderung in %; $s_{\pm}$: Standardabweichung; x^{-1} : reziproker Wert der Längenänderung)

Konzentr. [mol/l]		10 ⁻¹⁰	10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵
Kontrolle	n	6	12	12	12	12	7
	$\bar{x}$	0,65	1,34	2,86	5,05	11,60	19,90
	$s_{\pm}$	0,09	0,24	0,45	0,90	1,10	1,20
	x^{-1}	1,54	0,75	0,35	0,20	0,08	0,05
Röntgen	n		7	8	8	8	6
50 Gy	$\bar{x}$		0,87	1,96	3,81	9,00	18,00
	$s_{\pm}$		0,20	0,21	0,33	0,56	1,00
	x^{-1}		1,15	0,51	0,26	0,11	0,06

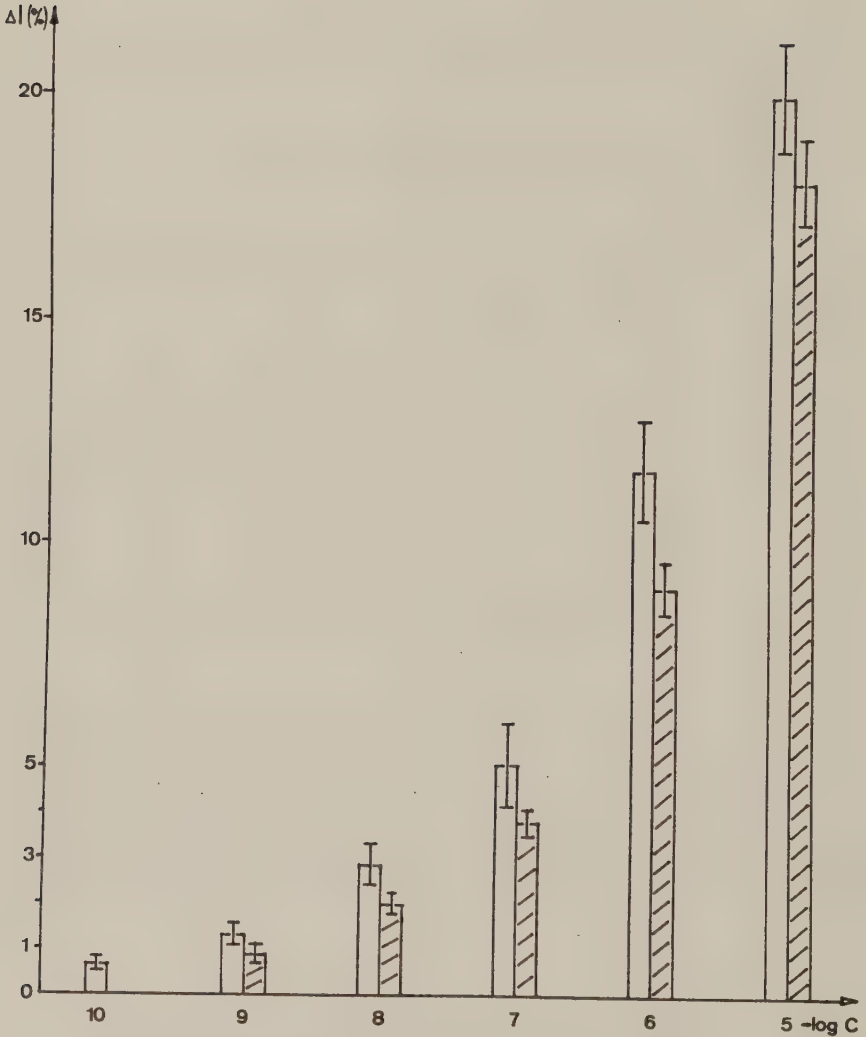


Abb. 22: Darstellung der Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Acetylcholin am isolierten M. Detrusor der Sprague Dawley-Ratte:
Abszisse: Acetylcholinkonzentration in mol/l
Ordinate: Durchschnittliche prozentuale Längenänderung der Kontrollpräparate □ und der lokal mit 50 Gy bestrahlten Präparate ▨ (35-40 Tage nach Exposition)

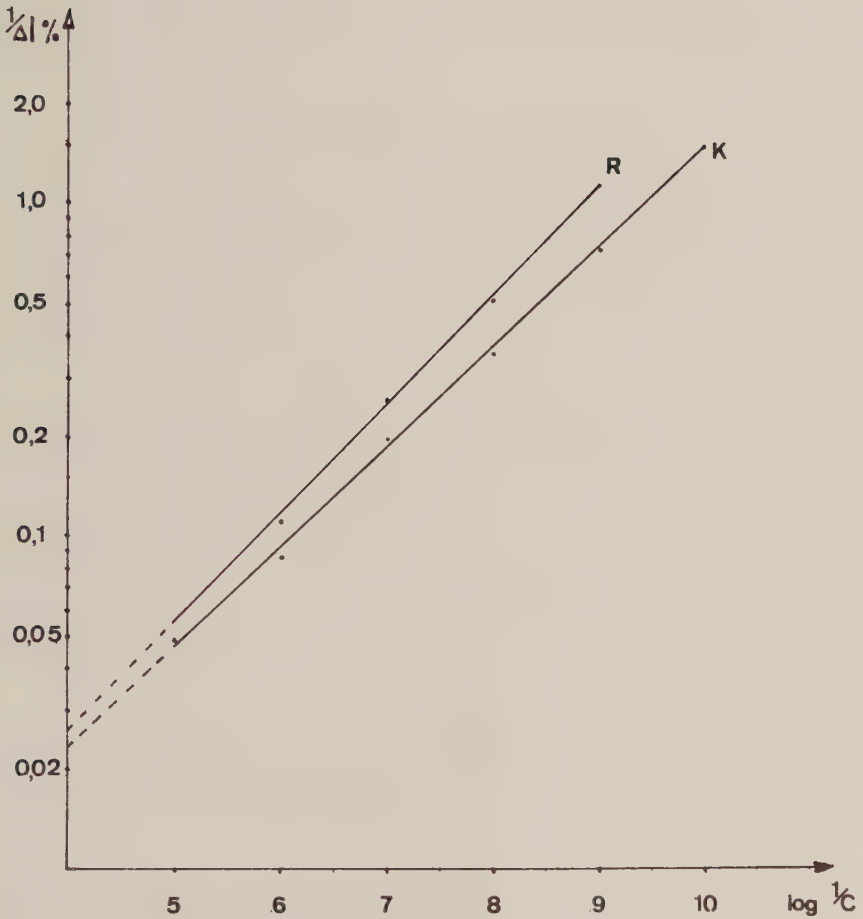


Abb. 23: Doppeltreziproke Darstellung der Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Acetylcholin am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte

Abszisse: Acetylcholinkonzentration (logarithmisch)
Ordinate: Prozentuale Längenänderung (logarithmisch)
(K: Kontrolle; R: 35-40 Tage nach Strahlenexposition von 50 Gy)
Werte: s. Tab. 5

4.4. Zum Einfluß der lokalen Bestrahlung mit 50 Gy in vivo auf die Adrenalinwirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte

Der Einfluß einer einmaligen lokalen Bestrahlung der Harnblase mit 50 Gy in vivo auf die Adrenalinsensibilität des isolierten M. detrusor wurde 1 Tag, 7 Tage, 14 Tage und 35 - 40 Tage nach der Bestrahlung untersucht.

Da der isolierte M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte auf niedrige Adrenalinkonzentrationen (10^{-10} - 10^{-8} mol/l) mit einer Kontraktion, auf höhere (10^{-7} - 10^{-4} mol/l) mit einer Relaxation reagiert (s. Vorversuche), sollte an den in vivo bestrahlten Harnblasen vor allem geprüft werden, ob nach Strahlenexposition Adrenalin weiterhin dieselbe Reaktion bewirkt, oder ob, auch in Abhängigkeit vom Untersuchungszeitpunkt, Konzentrationsveränderungen zur Auslösung der entsprechenden Reaktion erforderlich sind. Zur Kontrolle wurde die Reaktion auf Adrenalin bei 30 unbestrahlten Präparaten getestet.

Um erste tonische Veränderungen zu bewirken, war durchschnittlich eine Adrenalinkonzentration von $2,6 \times 10^{-10}$ mol/l nötig, wobei die Konzentrationsbreite zwischen $0,5 \times 10^{-10}$ und 5×10^{-10} mol/l lag.

Adrenalinkonzentrationen zwischen $0,7 \times 10^{-8}$ und 7×10^{-8} mol/l bewirkten bei den Kontrollpräparaten erste Relaxationen, die durchschnittliche Relaxationsschwelle lag bei $2,8 \times 10^{-8}$ mol/l.

a) Acht Präparate, die 1 Tag vor der Untersuchung lokal bestrahlt worden waren, kontrahierten sich bei einer durchschnittlichen Adrenalinkonzentration von $3,25 \times 10^{-10}$ mol/l, ihre durchschnittliche Relaxationsschwelle war mit $0,5 \times 10^{-7}$ mol/l fast doppelt so hoch wie die der Kontrollen.

b) 7 Tage nach Strahlenexposition konnte an 8 Präparaten eine durchschnittliche kontraktionsauslösende Adrenalin-

konzentration von $5,5 \times 10^{-10}$ mol/l ermittelt werden, während die durchschnittliche Relaxationsschwelle bei $0,8 \times 10^{-7}$ mol/l lag.

Die Relaxationsschwelle der bestrahlten Präparate war somit fast 3 mal höher als bei den Kontrollen.

c) 14 Tage nach lokaler Bestrahlung konnte an 8 untersuchten Präparaten die durchschnittliche Kontraktionsschwelle bei $5,1 \times 10^{-10}$ mol/l ermittelt werden, während die Relaxationsschwelle bei $1,2 \times 10^{-7}$ mol/l lag und 4,3 mal höher als bei den Kontrollen war.

d) Im Zeitraum 35 - 40 Tage nach lokaler Bestrahlung bewirkte Adrenalin in einer Konzentration von $2,7 \times 10^{-10}$ mol/l bei 6 Präparaten erste Tonuserhöhungen, an 2 Präparaten konnte keine eindeutige Tonuserhöhung durch Adrenalin festgestellt werden.

Relaxation wurde durch Adrenalin bei allen 8 Präparaten bei einer durchschnittlichen Konzentration von $2,3 \times 10^{-7}$ mol/l ausgelöst, die somit 8,2 mal höher als die der Kontrollen war.

Auch in der Konzentrations-Wirkungs-Kurve war ein deutlicher Unterschied zwischen bestrahlten Präparaten (35 - 40 Tage nach Exposition) und Kontrollen festzustellen (Tab. 7, Abb. 27 und 28).

Kurze Zusammenfassung: An fast allen Detrusorpräparaten, die in unterschiedlichen Zeiträumen vor der Untersuchung einer lokalen Bestrahlung in vivo unterzogen worden waren, konnte mit niedrigen Adrenalinkonzentrationen eine Tonuserhöhung bewirkt werden, die sich allerdings nur bei zwei Gruppen signifikant von der Kontraktionsschwelle der Kontrollpräparate unterschied.

Für die durch Adrenalin bewirkte Relaxation bestand bei drei Gruppen ein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe (Abb. 25).

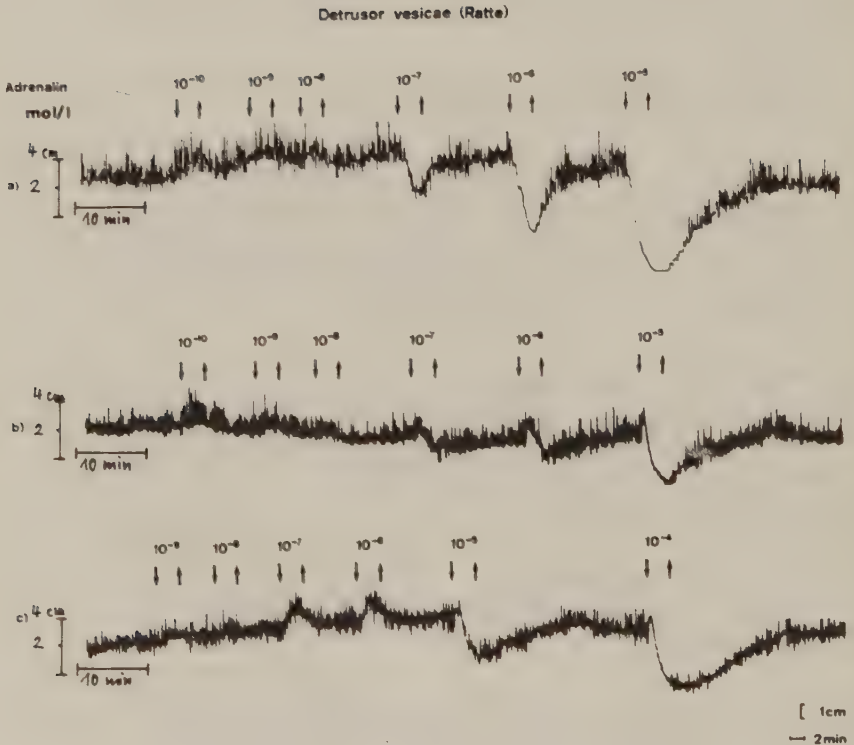


Abb. 24: Einfluß von lokaler Röntgenbestrahlung mit 50 Gy auf die Adrenalinwirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte:

- a: Das Kontrollpräparat reagierte auf niedrige Adrenalinkonzentrationen mit einer Kontraktion, auf höhere mit einer Relaxation
- b: 14 Tage nach Strahlenexposition (50 Gy) konnte bei höheren Adrenalinkonzentrationen (10^{-7} , 10^{-6} mol/l) eine biphasische Reaktion beobachtet werden
- c: 35 Tage nach lokaler Bestrahlung mit 50 Gy wurde durch Adrenalinkonzentrationen von 10^{-7} und 10^{-6} mol/l eine deutliche Kontraktion ausgelöst (Umkehr der Adrenalinwirkung); höhere Adrenalinkonzentrationen führten zu einer verminderten Relaxation.

Aus Tab. 6 ist ersichtlich, daß sich mit zunehmender Zeit nach lokaler Bestrahlung die relaxationsauslösende Adrenalinkonzentration fortlaufend erhöhte.

4.5. Zum Einfluß der lokalen Bestrahlung mit 25 Gy in vivo auf die Adrenalinwirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte

Die Harnblasen von 4 Ratten wurden mit 25 Gy lokal bestrahlt; 14 Tage später wurde die Wirkung von Adrenalin am isolierten M. detrusor getestet.

Adrenalin bewirkte bei einer durchschnittlichen Konzentration von 3×10^{-10} mol/l bei 7 Präparaten eine Kontraktion, bei einem Präparat konnte keine eindeutige Kontraktion festgestellt werden.

Alle Präparate relaxierten bei einer durchschnittlichen Adrenalinkonzentration von $0,8 \times 10^{-7}$ mol/l. Die Kontraktions- und Relaxationsschwelle der dazu untersuchten Kontrollpräparate lag im Konzentrationsbereich der Gesamtkontrollen.

Es war somit nur die relaxationsauslösende Adrenalinkonzentration der bestrahlten Tiere signifikant ($p < 0,0027$) höher als bei den Kontrolltieren.

TABELLE 6: Durchschnittliche Schwellenkonzentration von Adrenalin am isolierten M. detrusor vesicae der Sprague Dawley-Ratte in Abhängigkeit von der Strahlendosis und dem Untersuchungszeitpunkt

(SK: Schwellenkonzentration; n: Anzahl der Präparate, n. Exp.: nach Exposition, *: signifikanter Unterschied zur Gesamtkontrolle)

	Kontraktion		Relaxation		Kontraktion		Relaxation	
SK (nmol/l)	n	SK	n	SK	n	SK	n	SK
	Kontrolle							
	30	0,26 <u>+0,17</u>	28	28,0 <u>+22,0</u>				
Zeit n. Exp.	Bestrahlung							
	50 Gy				25 Gy			
1 Tag	8	0,32 <u>+0,23</u>	8	50,0 <u>+30,0</u>	7 0,30 <u>+0,22</u> 8 80,0* <u>+40,0</u>			
7 Tage	8	0,55* <u>+0,28</u>	8	80,0* <u>+40,0</u>				
14 Tage	8	0,51* <u>+0,31</u>	8	124,0* <u>+60,0</u>				
35-40 Tage	6	0,27 <u>+0,24</u>	8	230,0* <u>+160,0</u>				

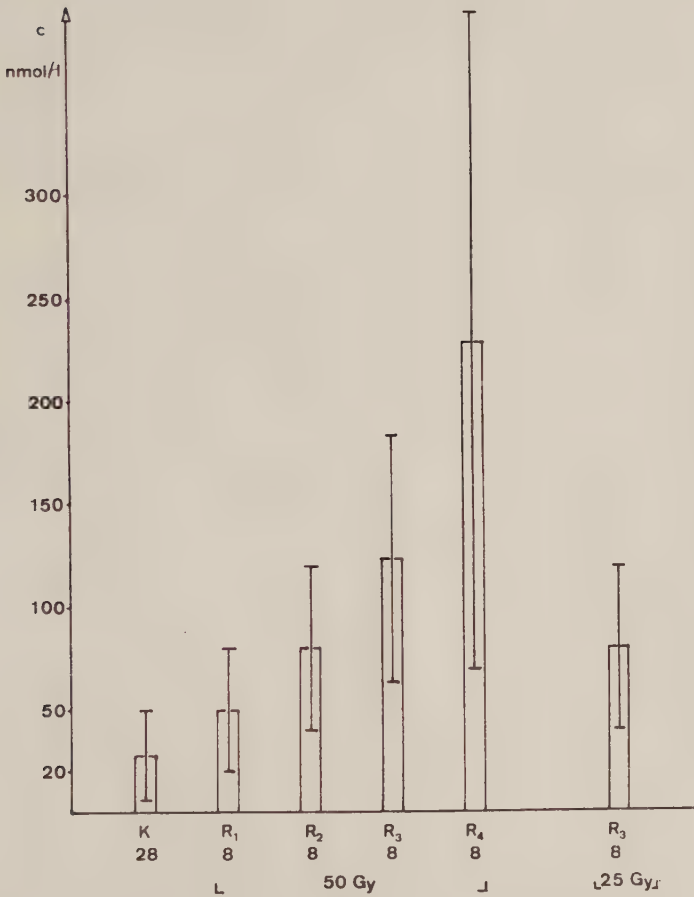


Abb. 25: Graphische Darstellung der durchschnittlichen relaxationsauslösenden Schwellenkonzentration von Adrenalin am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte in Abhängigkeit von Strahlendosis und Untersuchungszeit

Abszisse: Anzahl der Präparate pro Untersuchungsgruppe
Ordinate: Durchschnittliche relaxationsauslösende Schwellenkonzentration und Standardabweichung.

(K: Kontrolle; R₁-4: Zeit nach lokaler Bestrahlung mit 50 Gy, R₁: 1 d, R₂: 7 d, R₃: 14 d, R₄: 35-40 d)

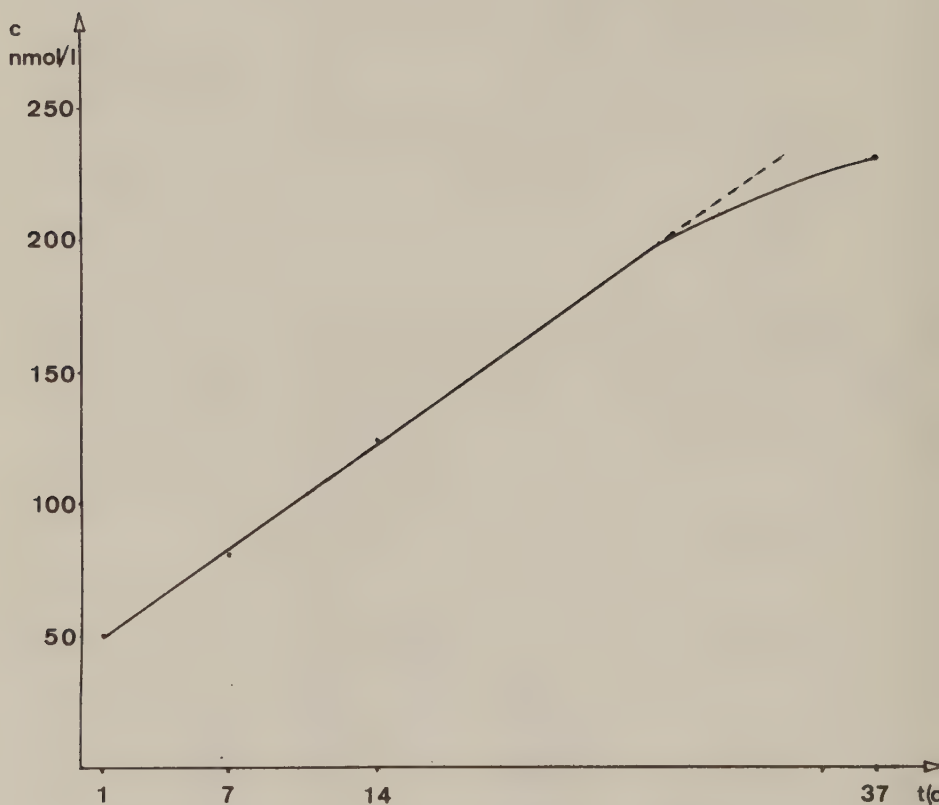


Abb. 26: Graphische Darstellung der durchschnittlichen relaxationsauslösenden Schwellenkonzentration von Adrenalin am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte nach lokaler Röntgenbestrahlung mit 50 Gy in Abhängigkeit von der Untersuchungszeit.

Abszisse: Zeit nach Strahlenexposition (in Tagen)
Ordinate: Durchschnittliche relaxationsauslösende Schwellenkonzentration

TABELLE 7: Prozentuale Längenänderung des isolierten M. detrusor vesicae der Sprague Dawley-Ratte nach Adrenalin-Zugabe (n: Anzahl der Präparate; $\bar{x}$: durchschnittliche Längenänderung in %; s $\pm$: Standardabweichung; x^{-1} : reziproker Wert der Längenänderung)

Konzentration [mol/l]		10 ⁻¹⁰	10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵
Kontrolle	n	15	15	15	15	15	8
	$\bar{x}$	0,30	0,70	0,20	-3,60	-7,90	-15,90
	s $\pm$	0,40	0,70	1,30	1,00	1,90	2,90
	x^{-1}	3,33	1,43	-	0,28	0,12	0,06
Röntgen 50 Gy	n	7	7	7	7	7	7
	$\bar{x}$	0,25	0,54	1,14	-1,50	-5,50	-12,00
	s $\pm$	0,22	0,26	0,18	-	0,52	0,82
	x^{-1}	4,00	1,85	0,88	-	0,18	0,08

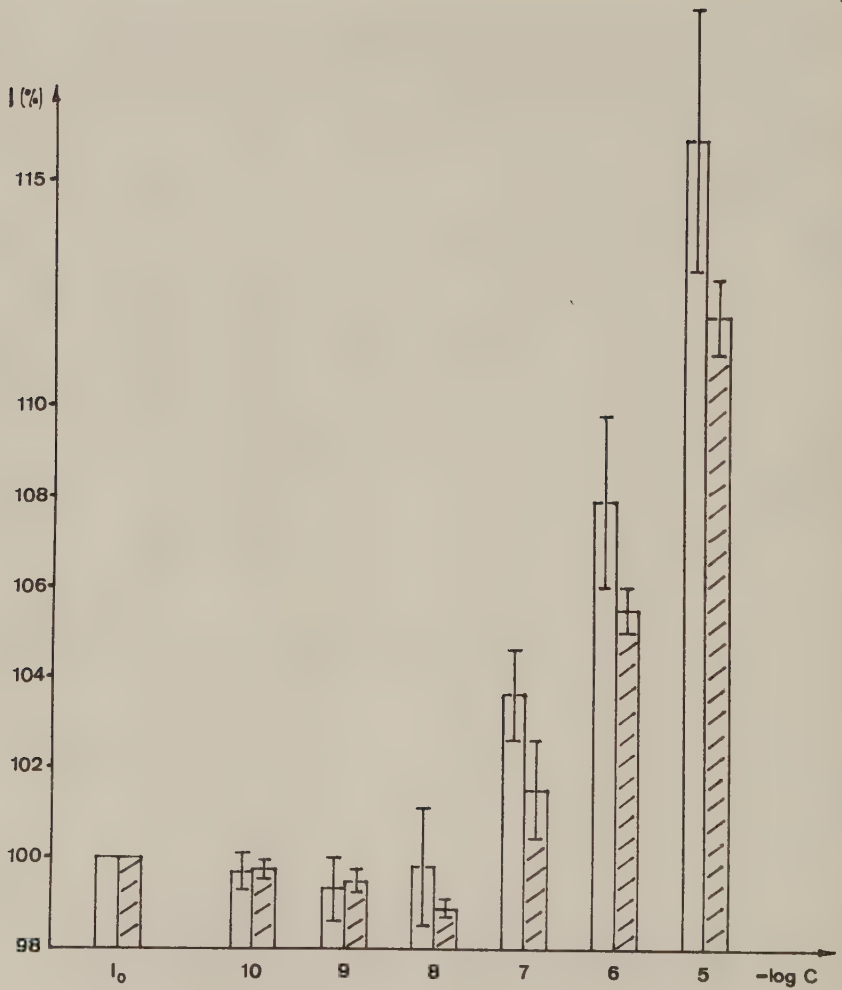


Abb. 27: Darstellung der Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Adrenalin am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte:
Abszisse: Adrenalin-Konzentration in mol/l
Ordinate: Durchschnittliche prozentuale Längenänderung der Kontrollpräparate □ und der mit 50 Gy lokal bestrahlten Präparate ▨ (35-40 Tage nach Exposition)
Werte s. Tab. 7

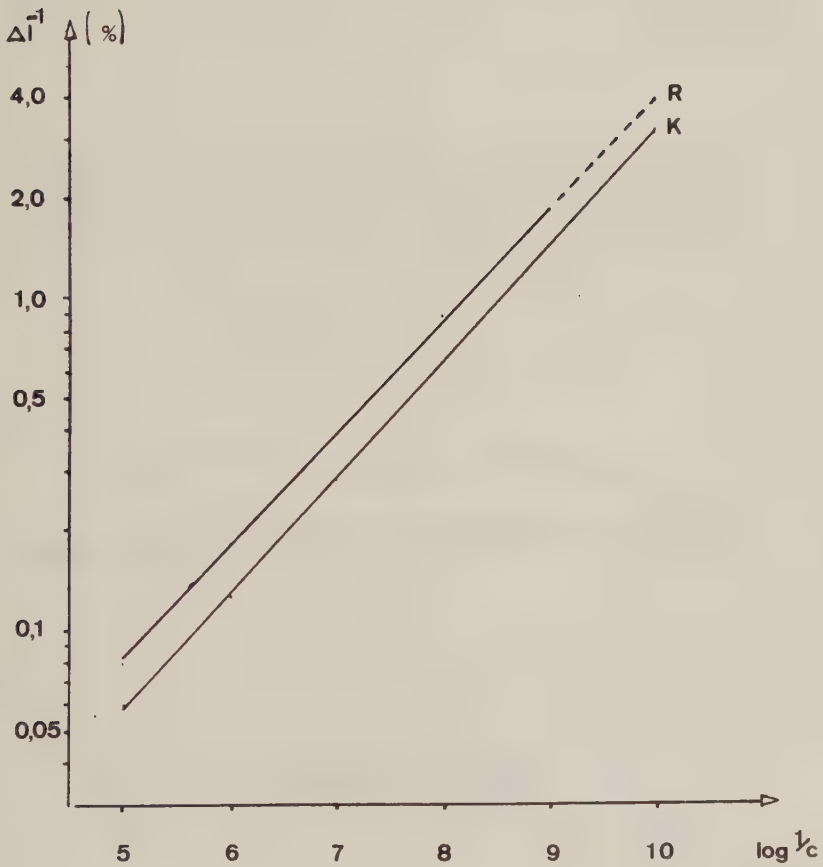


Abb. 28: Doppeltreziproke Darstellung der Konzentrations-Wirkungs-Kurven von Adrenalin am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte:

Abszisse: Adrenalinkonzentration (logarithmisch)
Ordinate: Prozentuale Längenänderung (logarithmisch)

(K: Kontrolle; R: 35-40 Tage nach lokaler Bestrahlung mit 50 Gy)
Werte s. Tab. 7

4.6. Zum Einfluß der kombinierten Behandlung mit Phentolamin und lokaler Bestrahlung mit 50 Gy in vivo auf die Adrenalinwirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte

Nachdem Versuche über den Einfluß von Phentolamin in vitro und in vivo sowie von lokaler Bestrahlung auf die Adrenalinsensibilität durchgeführt worden waren, wurden beide Faktoren in Kombination getestet.

Dabei wurden 6 Ratten Phentolamin in einer Dosis von 3,8 mg/kg Körpergewicht intramuskulär injiziert und 1 Stunde später die Harnblase dieser Ratten mit 50 Gy lokal bestrahlt.

a) 1 Tag nach Bestrahlung wurde an 6 isolierten Detrusorpräparaten von 3 Ratten Adrenalin getestet.

Bei 4 Präparaten konnten durch Adrenalin im Konzentrationsbereich von $0,7 \times 10^{-8}$ bis 2×10^{-8} mol/l erste Tonuserhöhungen registriert werden, während die Relaxationsschwelle für alle 6 Präparate bei einer durchschnittlichen Adrenalinkonzentration von $0,7 \times 10^{-7}$ mol/l lag.

b) 7 Tage nach kombinierter Behandlung wurde Adrenalin an 6 isolierten Detrusorpräparaten von 3 weiteren Ratten getestet. Die zur Kontraktion führende Schwellenkonzentration lag bei fünf Präparaten zwischen $0,5 \times 10^{-9}$ und 10^{-9} mol/l. Früheste Relaxation konnte bei einer durchschnittlichen Adrenalinkonzentration von $1,3 \times 10^{-7}$ mol/l ermittelt werden.

Zwei Detrusorpräparate, die der gleichen Ratte entstammten, kontrahierten sich erst bei einer Adrenalinkonzentration von 10^{-7} mol/l; ihre Relaxationsschwelle lag bei $0,5 \times 10^{-5}$ mol/l (s. Abb. 29 a).

Kurze Zusammenfassung: 1 Tag nach kombinierter Behandlung mit Phentolamin und lokaler Bestrahlung war die kontraktionsauslösende AdrenalinKonzentration bei der behandelten Gruppe 46 mal höher als bei der Kontrollgruppe ($p < 0,0002$). Bei der am 7. Tag nach Behandlung untersuchten Gruppe wurde nur eine leichte Erhöhung (2,3 fach) der Schwellenkonzentration festgestellt ($p < 0,01$). Umgekehrt war die relaxationsauslösende AdrenalinKonzentration bei der 1 Tag nach kombinierter Behandlung untersuchten Gruppe nur leicht erhöht, während 7 Tage später ein 4,6 facher Unterschied registriert wurde ($p < 0,0002$).

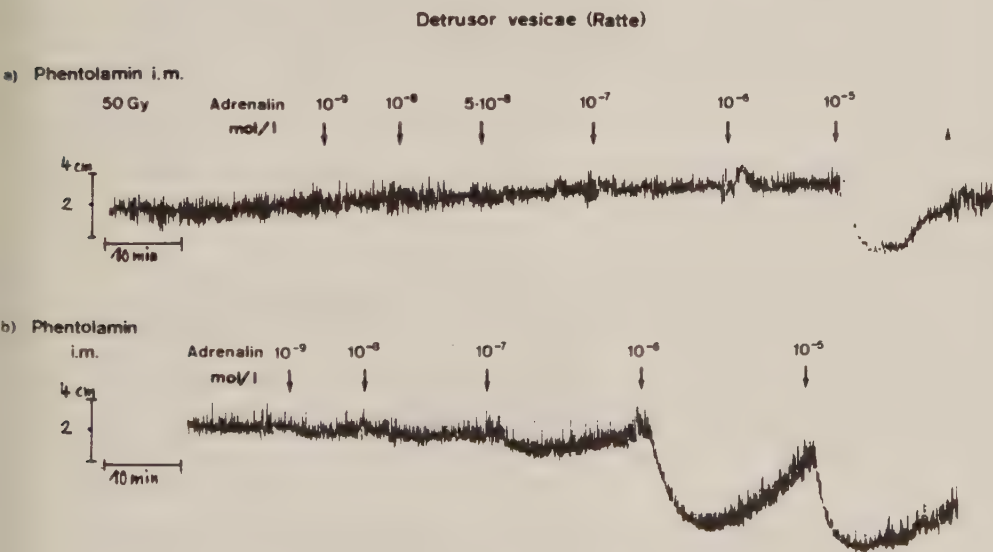


Abb. 29: Einfluß von Phentolamin und lokaler Röntgenbestrahlung mit 50 Gy auf die Adrenalinwirkung am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte:

- a: 7 Tage nach intramuskulärer Phentolamin-Injektion und zusätzlicher Röntgenbestrahlung war sowohl die kontraktions- als auch die relaxationsauslösende Adrenalinwirkung gehemmt.
- b: Wurde nur Phentolamin intramuskulär injiziert, war durch Adrenalin keine Kontraktion, sondern meist eine früher einsetzende Relaxation auszulösen.

5. Zum Einfluß von pränataler Belastung mit niedrigen Dosen von Gammastrahlen auf die Transmitterwirkung am isolierten M. detrusor von Wistar-Ratten

An trächtigen Wistar-Ratten wurde am 6., 7., 8., und 9. Tag der Gestation folgende Behandlung durchgeführt: Eine Gruppe wurde an jedem Behandlungstag einer Ganzkörperbestrahlung mit 0,15 Gy an einer Cs - 137 Bestrahlungsanlage ausgesetzt; Gesamtdosis $4 \times 0,15$ Gy. Bei einer weiteren Gruppe wurde eine einmalige Ganzkörperbestrahlung mit 0,6 Gy am 16. Gestationstag durchgeführt. An den Nachkommen dieser Muttertiere wurde im Alter von 4 Monaten die Reaktion des isolierten M. detrusor auf Acetylcholin und Adrenalin getestet.

5.1. Zur Wirkung von Acetylcholin am isolierten M. detrusor von Wistar-Ratten

Bei 16 Kontrollpräparaten bewirkte Acetylcholin in einer Konzentration von 10^{-10} bis 7×10^{-10} mol/l erste Kontraktionen und somit Tonuserhöhungen. Die durchschnittliche Schwellenkonzentration der Kontrollpräparate lag bei $3,4 \times 10^{-10}$ mol/l.

Bei der pränatal mit $4 \times 0,15$ Gy bestrahlten Gruppe wurde Acetylcholin an 11 isolierten Präparaten des M. detrusor getestet. Der Schwellenkonzentrationsbereich lag hier zwischen 10^{-10} und 7×10^{-10} mol/l, durchschnittlich bei $3,45 \times 10^{-10}$ mol/l.

Acht isolierte Präparate des M. detrusor wurden nach pränataler Bestrahlung mit $1 \times 0,6$ Gy am 16. Gestationstag untersucht. AcetylcholinKonzentrationen zwischen 10^{-10} und 10^{-9} mol/l, durchschnittlich 4×10^{-10} mol/l, führten zu ersten sichtbaren tonischen Reaktionen.

Zusammenfassung:

Der Acetylcholin-Einfluß auf die mechanische Aktivität am isolierten M. detrusor von Wistar-Ratten war identisch mit dem für Sprague Dawley-Ratten und wurde bei diesen beschrieben.

Bei diesem Versuchsvorhaben konnten keine signifikanten Wirkungsunterschiede von Acetylcholin zwischen Kontrollen und pränatal belasteten Tieren festgestellt werden. Die zu ersten Tonuserhöhungen führende Schwellenkonzentration lag bei allen Gruppen im gleichen Konzentrationsbereich (s. Abb. 30).

5.2. Zur Wirkung von Adrenalin am isolierten M. detrusor von Wistar-Ratten

Adrenalin bewirkte am isolierten M. detrusor nach fortlaufender Zugabe in steigender Konzentration eine zunehmende Kontraktion und somit Tonuserhöhung.

An 10 untersuchten Kontrollpräparaten wurden durch AdrenalinKonzentrationen zwischen 10^{-10} und 5×10^{-10} mol/l, durchschnittlich durch solche von $2,9 \times 10^{-10}$ mol/l, erste Kontraktionen ausgelöst.

Bei acht Präparaten von pränatal (6. - 9. Gestationstag) mit $4 \times 0,15$ Gy bestrahlten Ratten lag die durchschnittliche kontraktionsauslösende AdrenalinKonzentration bei $3,2 \times 10^{-10}$ mol/l.

Von der am 16. Gestationstag mit Strahlen belasteten Gruppe wurde Adrenalin an 10 Präparaten des M. detrusor untersucht.

Die kontraktionsauslösende Adrenalinkonzentration lag zwischen 10^{-10} und 7×10^{-10} mol/l, durchschnittlich bei $3,5 \times 10^{-10}$ mol/l.

Kurze Zusammenfassung:

Obwohl für die durchschnittliche, kontraktionsauslösende Adrenalinkonzentration bei der Kontrollgruppe ein etwas niedrigerer Wert ermittelt werden konnte, bestand kein signifikanter Unterschied in der Reaktion auf Adrenalin, da die Konzentrationen im gleichen Variationsbereich lagen (s. Abb. 30).

Auch die Konzentrations-Wirkungs-Kurven zeigten keinen signifikanten Unterschied (s. Abb. 31).

TABELLE 8: Durchschnittliche Schwellenkonzentration (nmol/l) von Acetylcholin am isolierten M. detrusor der Wistar-Ratte nach pränataler Belastung mit $4 \times 0,15$ Gy (R) und $1 \times 0,6$ Gy (R_{16})

	Kontrolle	R	R_{16}
n	16	11	8
$\bar{x}$	0,34	0,35	0,40
s ₊	0,25	0,26	0,27

n: Anzahl der Präparate

$\bar{x}$: Durchschnittliche Schwellenkonzentration in nmol/l

s₊: Standardabweichung

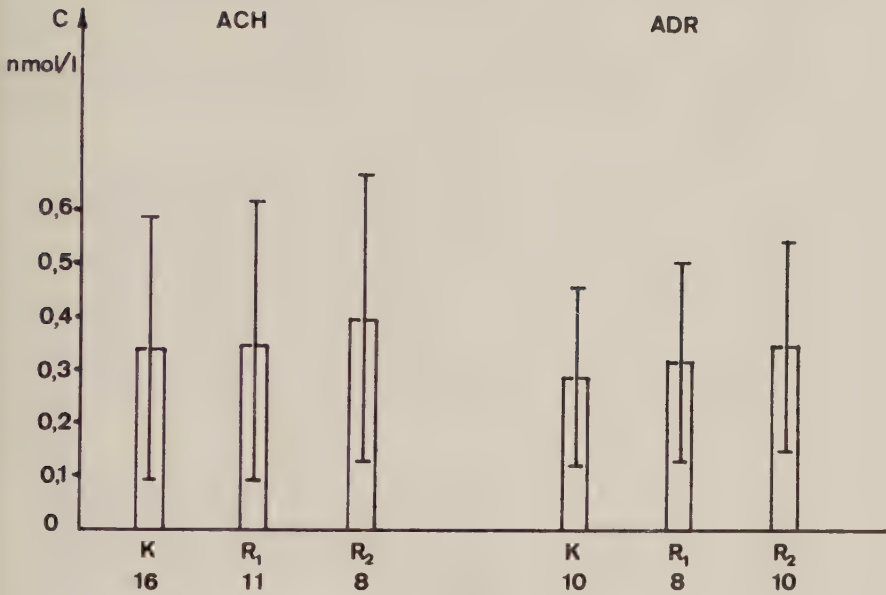


Abb. 30: Durchschnittliche Schwellenkonzentration von Acetylcholin und Adrenalin am isolierten M. detrusor der Wistar-Ratte nach pränataler Belastung mit 4 x 0,15 Gy (R) und 1 x 0,6 Gy (R₁₆)
Abszisse: Anzahl der Präparate
Ordinate: Durchschnittliche Schwellenkonzentration in nmol/l
Werte s. Tab. 8 und 9

TABELLE 9: Durchschnittliche Schwellenkonzentration (nmol/l) von Adrenalin am isolierten M. detrusor vesicae der Wistar-Ratte nach pränataler Belastung mit 4 x 0,15 Gy (R) und 1 x 0,6 Gy (R₁₆)
(n: Anzahl der Präparate; $\bar{x}$: Schwellenkonzentration in nmol/l; s_±: Standardabweichung)

	Kontrolle	R	R ₁₆
n	10	8	10
$\bar{x}$	0,29	0,32	0,35
s _±	0,17	0,19	0,20

TABELLE 10: Prozentuale Längenänderung des isolierten M. detrusor vesicae der Wistar-Ratte nach Adrenalineinwirkung: (n: Anzahl der Präparate; $\bar{x}$: durchschnittliche Längenänderung in %; s_±: Standardabweichung)

Konzentration [mol/l]		10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵
Kontrolle	n	12	12	12	12	12
	$\bar{x}$	1,80	2,90	5,20	8,40	15,10
	s _±	0,20	0,25	0,90	1,50	1,60
Röntgen 16. Tag	n	7	7	8	8	8
	$\bar{x}$	1,60	2,40	4,80	9,80	16,10
	s _±	0,30	0,20	0,90	1,00	1,40

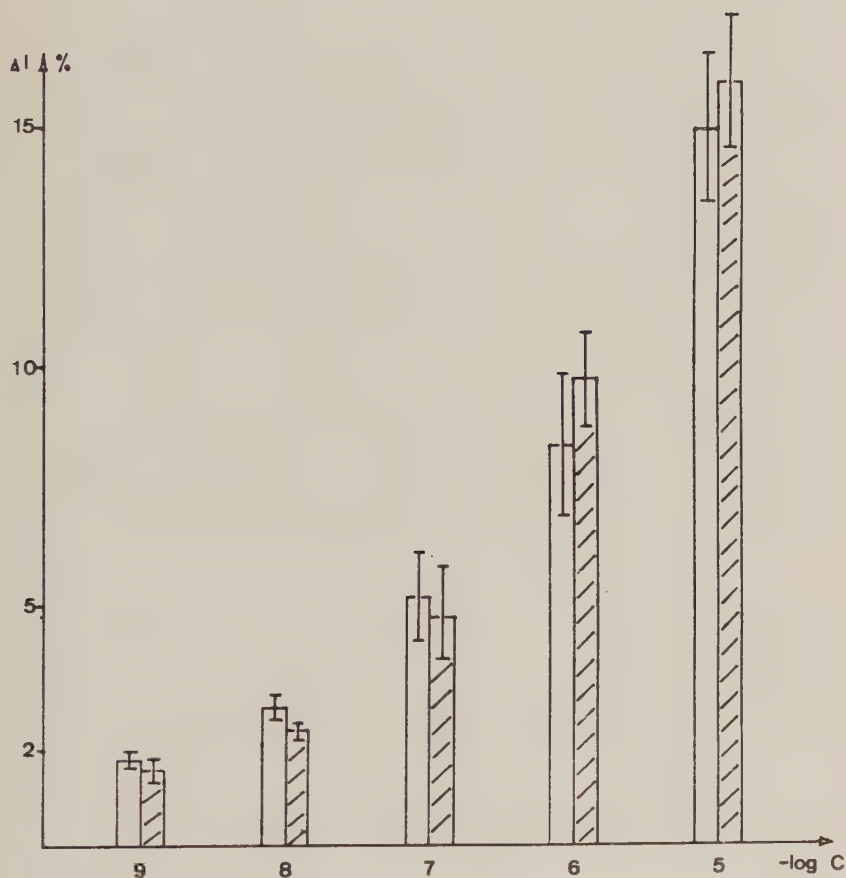


Abb. 31: Darstellung der Konzentrations-Wirkungs-Kurve von Adrenalin am isolierten M. detrusor der Wistar-Ratte:

Abszisse: Adrenalin-Konzentration in mol/l
Ordinate: Durchschnittliche prozentuale Längen-
änderung der Kontrollpräparate □ und der Präpa-
rate von pränatal mit 0,6 Gy bestrahlten Wistar-
Ratten ▨
Werte s. Tab. 10

6. Histologische Untersuchungen

Die histologischen Untersuchungen der Harnblase wurden im Pathologischen Institut der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung Neuherberg/München durchgeführt. Von fünf Rattenharnblasen wurden Paraffinschnitte nach üblichem Verfahren angefertigt und eine Hämalaun-Eosin-Färbung durchgeführt.

Nach lokaler Bestrahlung in vivo mit 50 Gy wurden 2 Wochen nach Strahlenexposition die Harnblase von 1 Ratte, 4 und 6 Wochen nach Strahlenexposition die Harnblasen von jeweils 2 Ratten untersucht.

Zwei Wochen nach lokaler Bestrahlung wurden keine pathohistologischen Veränderungen festgestellt.

Vier Wochen nach Strahlenexposition waren eine Hyperämie und geringe lymphozytäre Infiltration kenntlich.

Sechs Wochen nach Strahlenexposition zeigte sich eine mäßige subepitheliale und interstitielle Fibrose.

V. DISKUSSION

Zur pharmako-physiologischen Methodik

Die Erfassung der mechanischen Aktivität isolierter Harnblasenpräparate gibt wichtige Informationen über den Basaltonus, die Motilität und die Ansprechbarkeit auf Transmitter sowie ihre Veränderung nach akuter Strahlenexposition (MICHAILOV et al. 1974 a). Diese Informationen ermöglichen eine Kausalanalyse von Blasenfunktionsstörungen nach Bestrahlung in vivo sowohl im Tierversuch als auch bei Patienten (MICHAILOV et al. 1975).

Die von MICHAILOV et al. (1970, 1981) eingeführte Superfusionsmethode zur Betropfung der isolierten Präparate bietet gegenüber dem von anderen Autoren benützten Organbad u.a. folgende Vorteile:

Einen schnellen und vollständigen Lösungswechsel (ohne Irritation des Präparates), keine Veränderung der Stoffkonzentration wie bei Stoffzugabe im Organbad und die Möglichkeit, Testreaktionen zeitabhängig genauer zu erfassen. Bei den vorliegenden Experimenten wurde die isotonische Meßtechnik der isometrischen vorgezogen, da sie eine exakte Differenzierung zwischen tonischer und phasischer Aktivität ermöglicht. Bei letzterer bewirkt die veränderliche Muskelspannung bei konstanter Länge eine mechanische Reizung der Präparate.

Zur experimentell-radiologischen Methodik

Die akute Bestrahlung in vitro wurde mit einer Oberflächen-Therapie-Anlage durchgeführt. Obwohl diese Anlage weiche Röntgenstrahlen (Röhrenspannung 50 kV) erzeugt, verteilt sich die Strahlung im Präparat relativ gleichmäßig (Halbwertschichtdicke 4mm, Präparatdicke 1mm).

Die akute Bestrahlung in vivo wurde mit einer 300 kV Iso-volt-Röntgenanlage durchgeführt.

Wegen der kleinen geometrischen Verhältnisse bei der Ratte wurde die Harnblase praktisch homogen exponiert.

Wie in der METHODIK ausführlich besprochen, wurde - angesichts der diffizilen Lokalbestrahlung - die Harnblase mittels intravenöser Kontrastdarstellung lokalisiert. Die von ANTONAKOPOULOS et al. (1982) beschriebene intravesicale Kontrastmittelapplikation besitzt den Nachteil, daß die Ureteren nicht erfaßt werden können und der Füllungsgrad der Harnblase extern beeinflußt wird und nicht, wie in unserem Fall, im normalen physiologischen Zustand dargestellt wird. Das Kontrastmittel hatte keinen Einfluß auf die Strahlenreaktion bezüglich der Transmittertests, da Kontrollversuche (die Harnblase war hier ohne Kontrastmittel ersichtlich) dieselben Ergebnisse brachten.

Zu den Hormonrezeptoren im Rattendetrusor - Differenzen zwischen Wistar- und Sprague Dawley-Ratten

Die Reaktion der Harnblase auf die Neurotransmitter Acetylcholin und Adrenalin wurde sowohl in vivo zystometrisch als auch in vitro isotonisch bzw. isometrisch am isolierten Organpräparat der verschiedenen Spezies untersucht (NERGARDH et al. 1977; VANOV 1965; ELMER 1974; MICHAÏLOV et al. 1974a; EDVARDSEN UND SETEKLEIV 1968). Das von diesen Autoren beschriebene Vorkommen sowohl von cholinergen als auch von α - und β -adrenergen Rezeptoren konnte in den eigenen Versuchen mit Hilfe rezeptorenspezifischer Agonisten und Antagonisten bestätigt werden.

Die unterschiedliche mechanische Aktivität und hormonelle Ansprechbarkeit von Detrusorpräparaten aus dem dorsalen und ventralen Teil der Harnblase können mit der in histo-chemischen Untersuchungen von EL BADAWI UND SCHENK (1966) ermittelten unterschiedlichen Verteilung vegetativer Neurone und Hormonrezeptoren in der Rattenblase erklärt werden.

ELMER (1974) beobachtete nach Noradrenalinapplikation an der Harnblase von Wistar-Ratten in vivo eine durch β -Re

zeptorstimulation bewirkte Relaxation und am isolierten Organ eine durch den dominierenden α -Effekt bewirkte Kontraktion.

Nach Phentolaminzugabe konnte an der isolierten Harnblase der Wistar-Ratte mit Adrenalin ebenfalls eine Relaxation ausgelöst werden.

Bisher nicht beschrieben ist die durch Adrenalin am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte induzierte Reaktion. Im Gegensatz zum isolierten M. detrusor der Wistar-Ratte bewirkt Adrenalin am isolierten M. detrusor der Sprague Dawley-Ratte in niedrigen Konzentrationen (10^{-10} - 10^{-9} mol/l) eine Kontraktion, während spätestens bei Adrenalinkonzentrationen von $>10^{-7}$ mol/l eine fortlaufend verstärkte Relaxation registriert werden konnte.

Nach Phentolaminzugabe trat bei den meisten Präparaten eine früher einsetzende und stärkere Relaxation auf. Propranolol hemmte zwar in allen Fällen die Adrenalin-induzierte Relaxation, führte aber nicht in allen Fällen zu einer Reaktionsumkehr auf Adrenalin. Somit wurde gezeigt, daß auch im M. detrusor von Sprague Dawley-Ratten α - und β -Rezeptoren vorhanden sind, wobei die β -Rezeptoren dominieren, wie es auch ELMER (1974) für die Harnblase von Hund, Katze und Kaninchen in vitro gefunden hatte.

Zur Bedeutung der "second messenger" und Ionen für strahleninduzierte Transmitterreaktionen

Die der Strahlenwirkung zugrunde liegenden biophysikalischen und biochemischen Mechanismen sind bis heute sowohl für erregbare als auch für nicht-erregbare Zellverbände noch nicht genügend geklärt. Ionisierende Strahlen haben eine komplexe Wirkung, wobei je nach Gewebe- und Organart einzelne Faktoren dominieren.

Beim M. detrusor sind Strahleneffekte in Bezug auf kontraktilem Apparat, elektro- und pharmako-mechanische Kop-

pelung, cyclisches Adenosin-monophosphat-System, Zellrezeptoren sowie neurogene und hämatogene Faktoren zu diskutieren.

Wie bekannt, bewirken Neurotransmitter über Zellrezeptoren spezifische ionale Membranpermeabilitätsveränderungen und einige Transmittersubstanzen auch Konzentrationsveränderungen an intrazellulären "zweiten Botenstoffen". Für Strahleneffekte an Transmitterreaktionen kommen folgende Wirkungsmechanismen in Betracht:

Es kann eine direkte Rezeptorschädigung erfolgen, oder die Zellmembranschädigung führt zu einer spezifischen Permeabilitätsveränderung für Ionen (KÖTELES 1982). Auch die intrazelluläre Signalübertragung, z.B. das cAMP-System, kann etwa über Hemmung der Adenylcyclase oder Stimulierung der Phosphodiesterase beeinflusst werden. Darüber hinaus können Spaltprodukte von Transmittern oder zweiten Botenstoffen einen hemmenden Einfluß auf die Rezeptoren ausüben (SCHACHINGER et al. 1982 a+b; 1983; BERRIDGE 1985).

Bezüglich der Acetylcholinwirkung unterscheidet man derzeit zwei Arten von cholinergen Rezeptoren: Nikotinartige an vegetativen Ganglien und an der motorischen Endplatte, muskarinartige an den cholinergen parasympathischen Zielorganen.

Der ionale Mechanismus der Acetylcholinwirkung an der glattemuskulären Zelle ist bis heute noch nicht geklärt. Abhängig von den Untersuchungsmethoden, von der Spezies und den verschiedenen glattemuskulären Organen, kommen die einzelnen Untersucher zu verschiedenen Ergebnissen (BOLTON 1981).

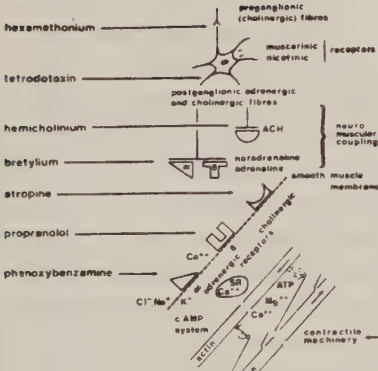
Übereinstimmend wird jedoch davon ausgegangen, daß die Aktivierung muskarinartiger Rezeptoren zu einer selektiven Erhöhung der Membranpermeabilität für verschiedene Ionen (Na^+ , K^+ , Ca^{++}) führt, die eine Depolarisation der Membran und eine Kontraktion der Muskelzelle bewirkt (CARAFOLI UND PENNISTON 1986).

Dem Wirkungsmechanismus soll eine enge Verbindung zwischen Muskarinrezeptoren und Ionenkanälen zugrunde liegen. Der-

zeit gibt es Hinweise dafür, daß zwei Arten von Ionenkanälen existieren, nämlich potential-sensitive Ionenkanäle (Depolarisation bewirkt Ionenkanalveränderung) und sog. "receptor-operated channels" (Permeabilitätsveränderung ohne Potentialveränderung) (BOLTON 1981). Der Ionenfluß dieser Ionenkanäle soll über Carriersysteme erfolgen. Den Ca^{++} Ionen soll dabei in mehrfacher Hinsicht eine besondere Bedeutung zukommen (Rezeptor-Ionenkanal-Verbindung, Kontraktion, Ca^{++} -induzierte Ca^{++} -Freisetzung). Es ist denkbar, daß ionisierende Strahlen mehrere Glieder dieser Kette von Rezeptormechanismen spezifisch beeinflussen.

PHARMACOPHYSIOLOGY OF SMOOTH MUSCLES

blocking drugs



SR sarcoplasmic reticulum
cAMP cyclic adenosine monophosphate
cGMP cyclic guanosine monophosphate
ATP adenosine triphosphate
GTP guanosine triphosphate
rays ionizing optical and other electromagnetic radiation

stimulating drugs

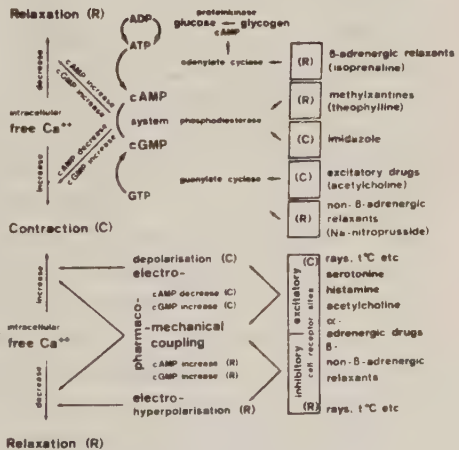


Abb. 32: Pharmakophysiologie der glatten Muskulatur (aus MICHAÏLOV et al. 1983)

Von adrenergen Rezeptoren sind ebenfalls zwei Haupttypen bekannt, α - und β -Rezeptoren. Die Erregung exzitatorisch wirkender α -Rezeptoren führt z.B. zur Kontraktion bestimmter glatter Muskelzellen, während die Erregung inhibitorisch wirkender α -Rezeptoren eine Erschlaffung bewirkt (z.B. im Gastro-Intestinal-Trakt) (SILBERNAGL UND DESPOPOULOS 1979; TRIGGLE 1972).

Im M. detrusor der Ratte sind wahrscheinlich keine inhibitorischen α -Rezeptoren vorhanden, da Phentolamin bei Sprague Dawley-Ratten die inhibitorische Reaktion des Adrenalins verstärkt und nicht schwächt oder aufhebt. Damit ist unwahrscheinlich, daß Röntgenstrahlen die inhibitorische Adrenalinreaktion über α -adrenerge Mechanismen beeinflussen; die Strahlen haben, wie berichtet, keinen sichtbaren Effekt auf die erregenden α -adrenergen Rezeptoren.

Als intrazellulärer Signalvermittler der β -Rezeptorenerregung fungiert zyklisches Adenosinmonophosphat (cAMP) (BÜLBRING et al. 1981; BERRIDGE 1985). Durch den Rezeptor-Transmitter-Komplex wird die zellmembranständige Adenylzyklase aktiviert, die den intrazellulären cAMP-Spiegel erhöht. Die Inaktivierung des cAMP wird von einer Phosphodiesterase unter Mithilfe eines zweiten "second messenger" bewirkt. Dieser in allen eukaryotischen Zellen reichlich vorkommende und sehr bedeutende zweite "second messenger" ist das Ca^{++} -bindende Protein Calmodulin (MARME 1985; WAY YIU CHEUNG 1982). In Verbindung mit Ca^{++} wirkt es auf viele Effektorenzyme ein. So stimuliert es die bereits erwähnte, im Zytosol vorkommende, Phosphodiesterase, aber auch die membranständige Adenylcyclase und die Ca^{++} -ATPase, eine membrangebundene " Ca^{++} -Pumpe". Der Ca/Calmodulin-Komplex beeinflusst die Ionenkanäle, die Neurotransmittersekretion und andere Stoffwechselfunktionen.

Als dritter und für die intrazelluläre Signalvermittlung bedeutender "second messenger" gilt das Diacylglycerol, ein Abbauprodukt des Phospholipids Phosphatidylinositol. Diese Substanz soll wesentlich an der Tumorpromotion beteiligt sein (MARME 1985).

Wirkungen von ionisierenden Strahlen sind auf allen Ebenen der Zellfunktionen denkbar (s. Abb. 32).

Zur akuten Strahlenreaktion in vitro

Wie bereits in der EINLEITUNG erwähnt, können ionisierende Strahlen Sofortreaktionen, insbesondere tonische Kontraktionen, an isolierten Präparaten des M. detrusor von Meerschweinchen und Mensch hervorrufen (MICHAILOV et al. 1970, 1974a, 1979).

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen, daß solche Sofortreaktionen auch am M. detrusor der Ratte ausgelöst werden können und von Strahlendosis und Dosisleistung abhängig sind. Die Schwellendosis des isolierten M. detrusor der Ratte liegt bei 20 - 30 Gy und ist etwas niedriger als die des isolierten Meerschweinchen-Detrusors (30 - 50 Gy) (MICHAILOV et al. 1974a). Am isolierten M. detrusor des Menschen können mit erheblich niedrigeren Strahlendosen (1 - 10 Gy) Sofortreaktionen ausgelöst werden (MICHAILOV et al. 1979).

Der Mechanismus der reversiblen tonischen Muskelkontraktion auf Bestrahlung ist noch ungeklärt. Da es nicht gelang, durch Einsatz cholinerg und adrenerg Rezeptoragonisten und -antagonisten sowie durch ganglienblockierende Substanzen (wie Hexamethonium und Bretylium) die strahleninduzierte Sofortkontraktion am isolierten M. detrusor des Meerschweinchen zu beeinflussen, wird die Beteiligung cholinerg und adrenerg Mechanismen ausgeschlossen (MICHAILOV et al. 1974a, 1975).

Auch die vorliegenden experimentellen Daten über Strahlenreaktionen bestätigen, daß am M. detrusor der Ratte keine cholinergen und adrenerg Mechanismen beteiligt sind, da Atropin und Phentolamin die Reaktionen nicht beeinflussen. Indomethazin, ein Prostaglandinsynthese-Blocker, hemmt die Röntgenstrahlenreaktion bei verschiedenen Blutgefäßen (MICHAILOV et al. 1974c, 1983); Prostaglandine potenzieren

die Strahlenreaktion der Rattenaorta. Ferner hemmt Indomethazin auch die Strahlenreaktion am M. detrusor von Meerschweinchen. Ob Prostaglandinmechanismen auch bei akuten Strahlenreaktionen des M. detrusor der Ratte eine Rolle spielen, ist noch eine offene Frage. Abschließend zu diesem Diskussionspunkt ist in Bezug auf die phasische Aktivität noch anzumerken, daß diese beim isolierten M. detrusor des Meerschweinchens und der Ratte erst nach einer Strahlenexposition von über 500 Gy beeinflusst, dagegen beim menschlichen M. detrusor bereits nach 10 - 30 Gy gehemmt wird (MICHAILOV et al. 1979).

Zur akuten und chronischen Strahlenreaktion in vivo

Nach lokaler Strahlenexposition des M. detrusor der Ratte in vivo konnte zu keinem Untersuchungszeitpunkt ein sichtbarer Unterschied in der mechanischen Aktivität (Basaltonus, phasische Aktivität) im Vergleich zu den Kontrollen festgestellt werden, wie er z.B. zwischen "dorsalen" und "ventralen" Präparaten bestand oder nach in vitro-Bestrahlung eintrat.

Durch eine quantitative Computer-Analyse der phasischen Aktivität könnte eventuell ihre Veränderung erfaßt werden. Da nachgewiesen ist, daß funktionelle Störungen der Harnblase nach lokaler Bestrahlung (KÜMPER et al. 1975) auftreten, lange bevor morphologische Veränderungen nachgewiesen werden können (ANTONAKOPOULOS et al. 1982, ROSEN 1971), war es erforderlich, den Strahleneinfluß auf cholinerge und adrenerge Hormonrezeptoren zu untersuchen.

Modifizierender Einfluß von Röntgenstrahlen auf die Transmitterwirkung am isolierten M. detrusor der Ratte

Durch die Bestrahlung des isolierten M. detrusor in vitro konnten neurogene und hämatogene Einflüsse, wie sie bei Bestrahlung in vivo zur Wirkung kommen, ausgeschlossen

werden. In Übereinstimmung mit KÖTELES (1979, 1982) wurde festgestellt, daß "niedrige" Strahlendosen eine Aktivitätssteigerung von Rezeptorfunktionen bewirken, während hohe Strahlendosen zu deren Hemmung führen (KÖTELES 1982; KONERMANN 1976). Weiterhin zeigte sich, daß unter Ausschluß integrierter Regelkreise bei in vitro-Bestrahlung erst durch hohe Strahlendosen (Schwellendosis von ca. 30 Gy) die mechanische Aktivität beeinflusst wird, während ein hemmender Einfluß auf die Transmitterwirkung erst bei ca. 300 Gy nachweisbar wird.

Dagegen war unmittelbar nach in vivo-Bestrahlung mit 50 Gy bereits eine Erhöhung der Acetylcholinschwelle zu verzeichnen. Übereinstimmung bestand - abgesehen von der erforderlichen Strahlendosis - darin, daß sowohl nach in vitro- als auch nach in vivo-Bestrahlung die Transmitterwirkung in gleicher Weise beeinflusst wurde.

Die zeitabhängige Erhöhung der Schwellenkonzentration von Acetylcholin (linearer Anstieg) nähert sich offensichtlich 35 - 40 Tage nach Strahlenexposition ihrem Maximum. Gleiches konnte für die relaxationsauslösende Schwellenkonzentration von Adrenalin festgestellt werden.

Aus den Konzentrations-Wirkungs-Kurven geht hervor, daß nach Bestrahlung sowohl die Affinität der Rezeptoren zu den Transmittern als auch die "intrinsic activity" verändert sind (KÖTELES 1979; CHANDRA UND STEFANI 1981).

Von den möglichen Erklärungen für tonus- bzw.

kontraktionssteigernde Effekte ionisierender Strahlen gewinnt der " Ca^{++} -Mechanismus" an Wahrscheinlichkeit.

Wie KÖTELES (1979, 1982) ausführt, wird die Aktivität membrangebundener Enzyme und Rezeptoren durch die Oberflächenladung und durch die Struktur der benachbarten Lipidmoleküle reguliert. Da die Membranlipide die strahlensensibelsten Komponenten unter den Biomolekülen sind (KÖTELES 1982), gilt es als wahrscheinlich, daß strahleninduzierte Schäden hier ihren Ausgang nehmen und die Membranpermeabilität verändern (SATO UND NISHIZAWA 1979, WALLACH UND WEIDKAMM 1973). Über potential-sensitive und rezeptor-vermittelte Ionenkanäle strömt Ca^{++} , seinem hohen Konzentrationsgradienten folgend, in die Zel-

le. Gleichzeitig kommt es durch Veränderung an intrazellulären Membranen (Mitochondrien, Sarkoplasmatisches Retikulum) und Ca-bindenden Proteinen zu einer Ca^{++} -Freisetzung, so daß der intrazelluläre Ca^{++} -Spiegel stark ansteigt. Das widerstandsfähige Calmodulin bildet mit Ca^{++} Komplexe und übt seine Wirkung auf verschiedene Enzymsysteme aus (WAY YIU CHEUNG 1982).

Durch die gleichzeitige Störung von Ca^{++} -ausschleusenden Zellsystemen (membrangebundene " Ca^{++} -Pumpe") tritt eine anhaltende Überladung der Zelle mit Ca^{++} ein, die zur dauernden Aktivierung Ca^{++} -abhängiger Prozesse und zu schwerwiegenden Strukturschäden an Membranen führt (KÖTELES 1982; MARME 1985). Eine Dauerkontraktion der glatten Muskelzelle ist die Folge.

Ca^{++} verbindet sich intrazellulär mit organischen Phosphaten, z.B. AMP, und fällt als unlösliches Salz aus (zytotoxische Wirkung).

Die stark erhöhte Ca/Calmodulin-Konzentration führt zur Stimulierung der cAMP-spaltenden Phosphodiesterase und bewirkt dadurch eine Hemmung des "second messenger" für den muskelrelaxierenden β -Effekt. Nach den Untersuchungen von SCHACHINGER et al. (1982 a+b, 1983) haben z.B. Radio-lyseprodukte von cAMP eine höhere Affinität zum cAMP-Bindungsnetz als das cAMP und üben eine starke Hemmung aus. Die zytotoxische Wirkung der stark erhöhten Ca^{++} -Konzentration und die gleichzeitige Schädigung von cAMP-abhängigen Stoffwechselleistungen stehen im Zusammenhang mit morphologischen Veränderungen an der Zelle.

Weiterhin ist bekannt, daß das Protein-Kinase C/Polyphosphatidylinositol-Signalübertragungssystem mit seinen vielfältigen enzymatischen Aktivitäten ein besonders wichtiges Regulationssystem für die Kontrolle der Proliferation und damit auch potentiell Ziel für die Oncogenie ist (KÖTELES 1982; MARME 1985).

Die angeführten schädigenden Strahlenwirkungen auf zellulärer Ebene können eine Erklärung für die klinisch zu beobachtenden morphologischen Veränderungen an der Harnblase, wie Schrumpfbilase und Tumorbildung, sein.

Beobachtungen von MICHAÏLOV UND HOHLBRUGGER (1981) haben ergeben, daß bei Patientinnen mit radiogener Zystitis eine Membranpotentialveränderung des Urothels vorliegt. Daraus kann man schließen, daß auch in nicht-erregbaren Zellen - in diesem Fall dem Urothel - ionisierende Strahlen Ionenpumpen und Zellstoffwechsel hemmen. Dies könnte eine Erklärung für die verminderte Ansprechbarkeit sowohl auf Acetylcholin als auch auf Adrenalin, insbesondere die B-Wirkung, sein.

Schlußfolgerung:

Den Ergebnissen zufolge wirkt in vitro-Bestrahlung des M. detrusor mit Röntgenstrahlen tonussteigernd. Kleine Strahlendosen vermindern, hohe Strahlendosen erhöhen die Acetylcholinschwelle. Hinsichtlich der Ansprechbarkeit auf Adrenalin führen hohe Strahlendosen bei Sprague Dawley-Ratten zur Relaxationsumkehr.

Wird der M. detrusor der Harnblase in vivo lokal röntgenbestrahlt, vermindert sich seine Ansprechbarkeit sowohl auf Acetylcholin als auch auf Adrenalin.

Während die Reaktion des M. detrusor in vitro auf spezifische Mechanismen hinweist, von denen insbesondere das cAMP-System und der zweite "second messenger", das Ca^{++} , zu berücksichtigen sind, könnte die in vivo-Wirkung initial gleichfalls auf spezifischeren, im weiteren Verlauf der Strahlenreaktion aber auch auf unspezifischeren Mechanismen beruhen, von denen - neben einer morphologischen Schädigung der Harnblasenwand - Kapillarschäden ("Strahlenvaskulopathie") sowie reparative Vorgänge (Fibroblastenreaktion - Bindegewebszubildung) in Betracht zu ziehen sind.

Weitere Untersuchungen müssen sich einmal auf die bisher nicht untersuchten Transmitter und Ionen (insbesondere Ca^{++})-Bewegungen, zum anderen auf feingewebliche Veränderungen der Harnblasenwand nach hochdosierter Strahlenanwendung richten. Die Aussagen sind für die experimentelle Strahlenbiologie erregbarer Strukturen ebenso von Bedeutung wie für die Beurteilung und Prophylaxe von Nebenwirkungen der Radiotherapie.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Über die experimentelle Erfassung und Pathogenese der unerwünschten Nebenwirkungen im Harntrakt nach gynäkologischer und urologischer Strahlentherapie (z. B. Blasenhyper-tonie, Schrumpfblase) liegen bisher nur wenig Erfahrungen vor. Deshalb wurde versucht, motorische pathophysiologische Reaktionen nach Strahlenexposition der Harnblase zu erfassen sowie elementar zu analysieren. Dabei wurden die motorische Reaktion isolierter Organpräparate des M. detrusor männlicher Sprague Dawley- und Wistar-Ratten - Basaltonus, phasische Kontraktionen sowie die Reaktionen auf die neurovegetativen Hormone Acetylcholin und Adrenalin - gemessen; in Zusammenhang damit zeigte sich, daß Adrenalin bei Sprague Dawley-Ratten eine Relaxation, bei Wistar-Ratten eine Kontraktion hervorruft.

Röntgenstrahlen (50 kV, DL = 3 Gy/min) riefen bei isolierten Präparaten des M. detrusor in vitro ab 50 Gy akute reversible und irreversible (für mehrere Stunden) tonische Sofortkontraktionen hervor, die dosis- und dosisleistungsabhängig sind. Cholinerge und adrenerge Blocker hatten keinen Einfluß.

Strahlendosen von 50 und 100 Gy bewirkten eine Verstärkung der kontraktilen Acetylcholin-Reaktion, Dosen von 200 - 400 Gy eine Verminderung dieser Reaktion sowie der Adrenalin-induzierten Relaxation (10^{-10} - 10^{-8} mol/l). Die Relaxation nach Adrenalin-Gabe von 10^{-7} - 10^{-5} mol/l wurde bei Dosen > 200 Gy in eine Kontraktion umgewandelt.

Um der Strahleneinfluß auf die oben angeführten Parameter in vivo zu untersuchen, wurde eine Technik zur exakten Lokalbestrahlung (nach Radiographie) der Rattenblase an narkotisierten Tieren entwickelt.

Die wesentlichsten Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen: Die kontraktile Acetylcholin-Reaktion (10^{-10} bis 10^{-5} mol/l) der lokal bestrahlten Blasen (4,1 Gy/min, 300 kV) wurde signifikant geschwächt; die Präparate rea-

gierten im Vergleich zu den unbestrahlten Kontrollpräparaten dosis- (10, 25 und 50 Gy) und zeitabhängig (0 bis 40 Tage nach der Behandlung) erst auf 10 bis 17 fach höhere Acetylcholin-Konzentrationen, bis die ersten mechanischen Sofortreaktionen auftraten.

Die Adrenalin-induzierte Relaxation (10^{-8} bis 10^{-5} mol/l) wurde durch Bestrahlung mit 25 und 50 Gy ebenfalls signifikant geschwächt (2 - 8 fach), d.h. die bestrahlten Präparate reagierten im Vergleich zu den Kontrollen zeitabhängig (1 bis 40 Tage) erst bei höheren Adrenalin-Konzentrationen. Es traten bei einigen bestrahlten Präparaten traten nach höheren Adrenalin-Konzentrationen (10^{-7} , 10^{-6} mol/l) bei bestrahlten Präparaten sogar Kontraktionen auf. Präparate von mit Phentolamin vorbehandelten Ratten zeigten nach sieben Tagen auf Adrenalin-Gabe (10^{-8} bis 10^{-5} mol/l) eine Relaxation, die bei den bestrahlten Präparaten (50 Gy) erst bei sehr hohen Konzentrationen (10^{-5} mol/l) erschien.

Nach pränataler Strahlenexposition (eine Gruppe wurde vom 6.-9. Tag der Gestation mit $4 \times 0,15$ Gy, eine weitere am 16. Gestationstag mit $1 \times 0,6$ Gy bestrahlt) war am isolierten M. detrusor von 4 Monate alten Wistar-Ratten die Schwellenkonzentration von Acetylcholin und Adrenalin im Vergleich zu Kontrolltieren nicht signifikant erhöht.

Als Ursachen der akuten und chronischen strahleninduzierten pathophysiologischen Reaktionen der Rattenharnblase sind Strahlenschäden funktioneller und morphologischer Natur in Betracht zu ziehen, von denen die Schädigung der cholinergen sowie der β -adrenergen Systeme, die für den Metabolismus aller Zellen von Bedeutung sind, eine wesentliche Rolle spielen dürfte. Im Ausblick wird empfohlen, die Strahlenwirkung auf die Ansprechbarkeit des M. detrusor auf andere Hormone (z.B. Histamin, Serotonin, Peptidhormone, Prostaglandinen) zu untersuchen.

SUMMARY

On the acute and chronic motor reactions of the detrusor muscle of the rat after local X-ray exposure.

- Measuring basic tone, phasic activity and cholinergic and adrenergic sensitivity -

There have been relatively few experimental investigations into the pathogenesis of harmful side-effects occurring after gynecological or urological radiotherapy (e.g. hypertrophy of the detrusor muscle, bladder contraction). Therefore the pathophysiological changes occurring in the neuro-motor system of the bladder after exposure to radiation have been examined and an initial analysis carried out. The motor reactions of isolated organ preparations of the detrusor muscle of male Sprague Dawley and Wistar rats have been measured (basal tone, phasic contractions) and in addition reactions to the neurotransmitters acetylcholine and adrenalin have been examined. An important finding from these last experiments has been that in Sprague Dawley rats adrenalin causes a relaxation of the detrusor while in Wistar rats it causes a contraction. In the majority of experiments Sprague Dawley rats were used, except where stated below.

In vitro X-irradiation (50 kV, 3 Gy/min) of isolated detrusor muscle preparations caused the immediate onset of reversible and irreversible (for many hours) tonic contractions. These occurred above a threshold dose of 50 Gy and were dose and dose-rate dependent. Cholinergic and adrenergic blocking agents had no influence on them. X-radiation doses of 50 - 100 Gy caused an increase in acetylcholine-induced muscular contraction while doses of 200 - 400 Gy caused a decrease of this contraction. These higher radiation doses also caused a decrease in adrenalin-induced relaxation (10^{-10} - 10^{-8} mol/l). The relaxation which occurred after adrenalin (10^{-7} - 10^{-5} mol/l) was transformed into a contraction by radiation doses of more than 200 Gy.

In order to investigate the effects of irradiation in vivo on physiological parameters a technique was developed which allowed precisely-positioned localized irradiation of the

bladder in anesthetized rats (after radiography).

The most important results obtained using this technique may be summarized as follows: acetylcholine-induced contraction (10^{-10} - 10^{-5} mol/l) and adrenalin-induced relaxation (10^{-8} - 10^{-5} mol/l) were both significantly reduced in locally irradiated bladders (300 kV, 4.1 Gy/min) compared with unirradiated controls.

There was a radiation dose-dependent (25 - 50 Gy) and post irradiation time-dependent (1 - 40 days) increase in the threshold concentration of acetylcholine required to produce acute contractions (10 - 17 times the concentrations required in controls). For adrenalin there was a radiation dose-dependent (25 - 50 Gy) and post-irradiation time-dependent (1 - 40 days) increase in the threshold dose required to produce relaxation (2 - 8 times the concentrations required in the controls). In some irradiated bladders contraction was seen after higher concentrations of adrenalin (10^{-7} , 10^{-6} mol/l). Seven days after Phentolamine treatment of unirradiated rats, bladder preparations showed a relaxation after adrenalin (10^{-8} - 10^{-5} mol/l) while preparations from locally irradiated rats showed such relaxation only after higher adrenalin concentrations (10^{-5} mol/l).

After pre-natal irradiation (4 x 0.15 Gy given days 6 - 9 of gestation or a single dose of 0.6 Gy on day 16 of gestation) detrusor muscle preparations from 4-month old Wistar rats showed no significant increases in the threshold concentrations of acetylcholine or adrenalin above those of unirradiated controls.

Pathophysiological changes must be taken into consideration in any explanation of the causes of acute and chronic damage induced by radiation. Among these pathophysiological changes an essential role could be played by damage to the cholinergic and β -adrenergic systems, as they are important for metabolism in all cells. As suggestions for further work, investigations into the effects of radiation on the responsiveness of the detrusor muscle to other hormones (e.g. histamine, serotonin, peptides, prostaglandins) would seem likely to prove fruitful.

VII LITERATURVERZEICHNIS

1. AMBACHE, N., and M.A. ZAR:
Non-synaptic transmission by post-ganglionic motor neurones in the mammalian bladder.
J. Physiol. 210, 761 - 783, (1970)
2. ANTONAKOPOULOS, G. N., R.M. HICKS, E. HAMILTON, and R.J. BERRY:
Early and late morphological changes (including carcinoma of the urothelium) induced by irradiation of the rat urinary bladder.
Br. J. Cancer 46, 403 - 416, (1982)
3. AWAD, S.A., A.W.BRUCE, G. CARRO-CIAMPI, J.W. DOWNIE and M. LIN:
Distribution of alpha- and beta-adrenoceptors in human urinary bladder.
Br. J. Pharmacol. 50, 525 -529, (1974)
4. BENNETT, M.R.:
Autonomic neuromuscular transmission.
New York, Cambridge University Press, (1972)
5. BERRIDGE, M.J.:
Die Signalübertragung in die Zelle.
Spektrum der Wissenschaft, 12, 136 - 146, (1985)
6. BÖTTCHER, H.D., J. SCHÜTZ, B. MATHEI:
Nebenwirkungen bei der Therapie des Kollumkarzinoms.
Strahlentherapie 159, 334 - 343, (1983)
7. BOLTON, T.B.:
Action of acetylcholine on the smooth muscle membrane.
in: *Smooth Muscle*, ed. by Bülbring E., A.F. Brading, A.W. Jones, T. Tomita, Edward Arnold, London, 199 - 217, (1981)
8. BRADLEY, W.E, G.W. TIMM and F.B. SCOTT:
Innervation of the detrusor muscle and urethra.
Urol. Clin. North. Am. 1, 3 - 27, (1974)
9. BRADLEY, W.E, G.W. TIMM and F.B. SCOTT:
Cystometry, IV: Neuromuscular transmission in urinary bladder.
Urology, 6, 520 - 524, (1975)
10. BÜLBRING, E., H.GHASI and T.TOMITA:
Adrenergic mechanisms.
in: *Smooth Muscle*, ed. by Bülbring E., A.F. Brading, A.W. Jones, T. Tomita, Edward Arnold, London, 219 - 248, (1981)

11. BURNSTOCK, G:
Purinergetic Nerves.
Pharmacol. Rev. 24, 510 - 557, (1972)
12. CAROFOLI, E. und J.T. PENNISTON:
Das Calcium - Signal.
Spektrum der Wissenschaft, 1, 76 - 85, (1986)
13. CHANDRA, S. and S. STEFANI:
Plasma membrane as a sensitive target in radiation-induced cell injury and death: an ultrastructural study.
Int. J. Radiat. Biol. 40, 305 - 311, (1981)
14. CREED, K.E.:
Effects of ions and drugs on the smooth muscle cell membrane of the guinea-pig urinary bladder.
Pflügers Arch. 326, 127 - 141, (1971)
15. DE SY, W.:
Receptor responses in isolated smooth muscle of the urinary bladder.
Arch. Int. Pharmacodyn. 186, 188 - 189, (1970)
16. EDVARDBSEN, P. and I. SETEKLIV:
Distribution of adrenergic receptors in the urinary bladder of cats, rabbits and guinea-pigs.
Acta Pharmacol. Toxicol. 26, 437 - 445, (1968)
17. EL BADAWEI, A. and E.A. SCHENK:
Dual innervation of the mammalian urinary bladder.
Am. J. Anat. 119, 405 - 428, (1966)
18. EL BADAWEI, A. and E.A. SCHENK:
A new theory of the innervation of the bladder musculature. part 1. morphology of the intrinsic vesical innervation apparatus.
The J. Urology 99, 585 - 587, (1968)
19. ELMER, M.:
Inhibitory beta-adrenoceptors in the urinary bladder of the rat.
Life Sciences 15, 273 - 280, (1974)
20. GÖSSNER, W.:
Grundlagen und allgemeine pathologische Anatomie der Strahlenschäden (Referat).
Verh. Dtsch. Ges. Path. 56, 168 - 187, (1972)
21. HEBEL, R, M.W. STROMBERG:
The urinary system
In: Anatomy of the laboratory rat.
The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 62 - 65, (1976)

22. HOHLBRUGGER, G., H. MADERSBACHER, M.Ch. MICHAILOV:
Transurothelial PD-measurements - a new assay for
the prognosis of detrusor function recovery after
neurogenic lesions.
In: 2nd Joint Meeting of Int. Continence Soc. and
Urodynamics Soc., Aachen, Proc. II, 594 - 596,
(1983)
23. HOHLBRUGGER, G., M.Ch. MICHAILOV, H. MADERSBACHER,
G. JAKSE:
In vivo assessment of impaired transurothelial
elec- trolyte transport in neoplastic, neurogenic,
obstruc- ted and inflammatory bladder disease.
Urol. Int. (in press) (1986)
24. HUKOVIC, S., M.I. RAND and S. VANOV:
Observations on an isolated, innervated prepara-
tion of the rat urinary bladder.
Br. J. Pharmacol. 24, 178 - 188, (1965)
25. ICRP PUBLICATION 41
Nonstochastic effects of ionizing radiation.
Pergamon Press, Oxford, New York, Sydney, Paris,
Frankfurt, (1984)
26. JONAS, U., H. HEIDLER:
Physiologie und Pathophysiologie der Harnblase.
In: Urologie in Klinik und Praxis,
Hrsg. Hohenfellner, R. und Zingg, E.J.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart/New York, 46-54,
(1982)
27. KENNEDY, D.R.H.:
Radiation-induced bladder cancer.
Br. J. Urology 53, 74 - 75, (1981)
28. KIEFER, I.:
Biologische Strahlenwirkungen.
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1981
29. KONERMANN, G.:
Somatische Strahlenwirkungen.
Atomkernenergie 28, 3 - 17, (1976)
30. KÖTELES, G.I.:
New aspects of cell membrane radiobiology and
their impact on radiation protection.
Atomic Energy Rev. 17, 3 - 30, (1979)
31. KÖTELES, G.I.:
Radiation effects on cell membranes.
Radiat. Environ. Biophys. 21, 1 - 18, (1982)

32. KNOWLES, J.F.:
Radiation-induced hydronephrosis in the rat:
a new experimental model.
Int. J. Radiat. Biol. 48, 737 - 744, (1985)
33. KNOWLES, J.F. and K-R. TROTT:
Radiation damage to the rat ureter.
Br. J. Cancer 53, Suppl. VII, (1986)
34. KREMLING, H., W. LUTZEYER, R. HEINTZ:
Gynäkologische Urologie und Nephrologie.
Urban u. Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore 1977
35. KÜMPER, H.J., M.CH. MICHAILOV, W. PENNING, A. GÖTZ:
Zur späten Harnblasenreaktion nach Bestrahlung des
Kollumkarzinoms.
Strahlentherapie, 149, 602 - 607, (1975)
36. KUSCHINSKY, G., H. LÜLLMANN:
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie, 9. Aufl.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York (1981)
37. LISSNER, J. und O. HUG.:
Radiologie I.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart (1980)
38. MALIN, J.M., Jr. and S. BOYARSKY:
The effects of cholinergic and adrenergic drug
stimulation of detrusor muscle.
Invest. Urol. 8, 286 - 291, (1970)
39. MARME, D.:
Calcium - Molekulare Mechanismen der zellulären
Funktion.
Naturwissenschaften 72, 113 - 117, (1985)
40. MARTIN, D., E. NEU, I. PRECHTER, K. TEMPEL, F.
ZETTLER, M.Ch. MICHAILOV:
Electro-, thermo- and X-ray-induced reactions in
isolated human and guinea-pig pyeloureter and
detrusor.
In: 8th Intern. Biophysics Congr., GB-Bristol;
Book of Abstracts, p. 283, (1984)
41. MICHAILOV, M.Ch.:
Immediate reactions of isolated guinea-pig and rat
urinary bladder to X-irradiation.
Strahlentherapie 139, 330 - 335, (1970)
42. MICHAILOV, M.Ch., H.J. KÜMPER, U.E. WELSCHER:
The action of certain drugs on the immediate con-
tractile response of isolated guinea-pig detrusor
muscle to X-irradiation.
Strahlentherapie 147, 290 - 297, (1974a)

43. MICHAILOV, M.Ch., U.E. WELSCHER, H.J. KÜMPER:
Immediate contractile responses of guinea-pig
bladder in situ to X-irradiation.
Strahlentherapie 148, 409-412, (1974b).
44. MICHAILOV, M.Ch., U. WELSCHER, I. PRECHTER:
X-ray-induced reactions of vascular smooth muscle
preparations.
Proc. Int. Un. Physiol. Sci., 11, p. 817, (1974c)
45. MICHAILOV, M.Ch., U.E. WELSCHER and Ch.M.
WOLFFHARDT:
Action of tetrodotoxin on the contractile respon-
ses of isolated guinea-pig urinary bladder prepa-
ration to X-irradiation and to electrical stimula-
tion.
Radiat. Environ. Biophys. 11, 289 - 294, (1975)
46. MICHAILOV, M.Ch., E. ELSÄSSER, U.E. WELSCHER:
Immediate mechanical reactions of isolated human
detrusor muscle on X-irradiation.
Strahlentherapie 155, 284 - 286, (1979)
47. MICHAILOV, M.Ch., and H. GRINDLER:
Pharmaco-physiological studies on the electrical
activity of single cells of human and guinea-pig
detrusor.
Proc. Int. Un. Physiol. Sci., 14, 580, (1980)
48. MICHAILOV, M.Ch., G. HOHLBRUGGER:
Effects of Urol on isolated neuromuscular prepara-
tions of guinea-pig and rat urogenital tracts.
Urol. Int. 36, 225 - 234, (1981)
49. MICHAILOV, M.Ch., H. GRINDLER-GREIMEL, U.E.
WELSCHER:
Zur Pharmakophysiologie isolierter neuro-glattmus-
kulärer Präparate aus Pyeloureter und Detrusor
vesicae von Mensch und Meerschweinchen.
Beitr. Urol., Vol. 3. Karger, Basel, 188 - 201,
(1983a)
50. MICHAILOV, M.Ch., A.B. MURRAY, M. STRELL, I.
PRECHTER, H. STAUDINGER:
The radiosensitivity of neuro-smooth-muscle prepa-
rations and the influence of drugs (Prostaglan-
dins, photosensitizers and others).
In: Tumor Biology and Therapy (Eds.: J.J. Broerse
et al.). Proc. 7th Int. Congr. Rad. Res., Amster-
dam, D7-13, (1983b)

51. MICHAÏLOV, M.Ch., I. PRECHTER, H. GREIMEL, U.E. WELSCHER:
Contractile reaction of isolated frog aorta after X-irradiation.
Strahlentherapie 159, 448 - 451, (1983c)
52. MICHAÏLOV, M.Ch., D. MARTIN, H. GRINDLER-GREIMEL, H. PETTER, B. RATTEL, Ch. FALTERMAYER, E. ELSÄSSER:
On the ionic regulation of the electrical and mechanical activities in human and guinea-pig ureter.
In: 8th Intern. Biophysics Congress, Bristol, UK. Book of Abstracts, p. 282, (1984)
53. NERGARDH, A. and J. GIERUP:
Adrenergic receptor function in the urinary bladder.
Scand. J. Urol. Nephrol. 8, 114 - 119, (1974)
54. NERGARDH, A., L.O. BOREUS and A.S. NAGLO:
Characterization of the adrenergic beta-receptor in the urinary bladder of man and cat.
Acta Pharmacol. Toxicol. 40, 14 - 21, (1977)
55. NEU, E., D. MARTIN, A. PETTER, B. RATTEL, A.B. MURRAY and M.Ch. MICHAÏLOV:
The spontaneous mechanical and electrical activity of isolated guinea-pig and human pyeloureter preparations.
60. Tagung d. Dt. Physiol. Gesellschaft, Dortmund
Abstract: Europ. J. Physiol., suppl. 15, 402, (1984)
56. NICKEL, R., A. SCHUMMER, E. SEIFERLE:
Lehrbuch der Anatomie der Haustiere Bd. IV.
Verlag P. Parey, Berlin und Hamburg (1975)
57. NICKEL, R., A. SCHUMMER, E. SEIFERLE:
Lehrbuch der Anatomie der Haustiere Bd. II.
Verlag P. Parey, Berlin und Hamburg (1979)
58. PRIGNITZ, R., F. HESS, F. KLEINSORGE, E.A. KOOP:
Beitrag zur Strahlentherapie der Kollum- und Korpuskarzinome.
Strahlentherapie, 159, 326 - 333, (1983)
59. RAMM, B., G. HOFMANN:
Biomathematik und medizinische Statistik.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, (1982)
60. ROSEN, V.I.:
Radiation pathology of the genitourinary tract.
in: Pathology of Irradiation, ed. by Charles C. Berdjis, M.D, The Williams and Wilkins Company, Baltimore, USA, 592 - 596, (1971)

61. SATO, CH. and K.NISHIZAWA:
Calcium-dependent process in reduction of cell
surface charge after X-irradiation
Int. J. Radiat. Biol., 35, 221 - 228, (1979)
62. SCHACHINGER, L., M.MICHAILOV, S. OWUWA DAAKU, I.
PRECHTER, H. KLÖTER and C. SCHIPPEL:
Effect of ionizing irradiation on the physiologi-
cal activity of cyclic adenosinemonophosphate on
smooth muscle preparations.
Radiat. Environ. Biophys. 20, 245 - 254, (1982a)
63. SCHACHINGER, L., U. HAGEN, H. KLÖTER, Ch. SCHIPPEL
and M. JAENICKE:
Inhibitory effect of irradiation products of
cyclic adenosine-monophosphate on the relaxing
ability of smooth muscle preparations.
Radiat. Environ. Biophys. 21, 97 - 107, (1982b)
64. SCHACHINGER, L., A. SRIVASTAVA, Ch. SCHIPPEL, H.
KLÖTER:
Effect of irradiated dib-cAMP on the tonic and
phasic activity of human myometrium.
Strahlentherapie 159, 358 - 365, (1983)
65. SELMAN, J.:
Elements of Radiobiology.
Charles C Thomas, Springfield, Illinois U.S.A.,
(1983)
66. SILBERNAGL, S. und A. DESPOPOULOS:
Taschenatlas der Physiologie
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1979)
67. STACH, W., J. FANGHÄNEL und E. SCHULTZ:
Neurohistologischer Beitrag zur efferenten Inner-
vation der Harnblase von Laboratoriumstieren.
Anat. Anz. 123, 439 - 470, (1968)
68. STEWART, F.A., B.D. MICHAEL and J. DENEKAMP:
Late radiation damage in the mouse bladder as
measured by increased urination frequency.
Radiat. Res. 75, 649 - 659, (1978)
69. STEWART, F.A., J. DENEKAMP, and D.G. HIRST:
Proliferation kinetics of the mouse bladder after
irradiation.
Cell Tissue Kinet. 13, 75 - 89, (1980)
70. STRICKLAND, P.:
Complications of radiotherapy.
in: Radiotherapy
Br. J. Hosp. Med. 23, 552 - 565, (1980)

71. SUNDIN, T., A. DAHLSTRÖM, L. NORLEN and N. SVEDMYR:
The sympathetic innervation and adrenoceptor
function of the human lower urinary tract in the
normal state and after parasympathetic denervation.
Invest. Urology, 14, 322 - 328, (1977)
72. TAIRA, N.:
The autonomic pharmacology of the bladder.
Ann. Rev. Pharmacol. 12, 197 - 208, (1972)
73. TEMPEL, K.:
Radiologie für Veterinärmediziner.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart (1983)
74. TRIGGLE, D.J.:
Adrenergic Receptors.
Ann. Rev. Pharmacol. 12, 185 - 196, (1972)
75. VANOV, S.:
Responses of the rat urinary bladder in situ to
drugs and to nerve stimulation.
Br. J. Pharmacol. 24, 591 - 600, (1965)
76. WALLACH, D.F.H., und E. WEIDEKAMM:
Strahleneffekte an Biomembranen.
Klin. Wschr. 51, 419 - 430, (1973)
77. WAY YIU CHEUNG:
Calmodulin - Schlüsselfigur im Zellgeschehen
Spektrum der Wissenschaft, 8, 36 - 45, (1982)
78. WELSCHER, U.E., M.Ch. MICHAÏLOV, I. RIEMER, and H.
GRINDLER:
The electrical burst activity of single cells in
guinea-pig detrusor smooth muscle.
In: Sixth Int. Biophys. Congr., Kyoto, Japan.
Ed. Int. Un. Biophysics, p. 388, (1978)



DANKSAGUNG

Herrn Dr. med. M. Ch. Michailov gilt mein besonderer Dank für die Anregung zu dieser Arbeit sowie für die Betreuung und Einführung in die Methodik des wissenschaftlichen Arbeitens.

Herrn Prof. Dr. K. Tempel danke ich für die Überlassung des Themas, für das große Interesse an der Arbeit und seine ständige Bereitschaft zu Diskussionen.

Frau Dr. E. Neu bin ich zu großem Dank verpflichtet für ihre wertvollen Anregungen, Diskussionen der Ergebnisse sowie ihre Hilfe bei der theoretischen Bearbeitung des Manuskriptes.

Herrn Prof. Dr. H. Müller-Mohnssen, Herrn Prof. Dr. A. Petter und Herrn Prof. Dr. K.-R. Trott danke ich für ihr Interesse und die großzügige Unterstützung dieser Arbeit.

Herrn Dr. J. F. Knowles, Herrn Doz. Dr. A. Luz sowie Herrn Dr. N. Breiter und möchte ich für ihre wertvolle Hilfe bei der Entwicklung der Methode zur lokalen Bestrahlung der Rattenharnblase und die histologischen Untersuchungen danken.

Frau I. Prechter möchte ich für ihre Behilflichkeit und die gute Zusammenarbeit danken.

Herrn und Frau Goddeng sei herzlich für die Hilfe beim Photographieren der Bilder gedankt.

LEBENS LAUF

Geburtstag	06. 12. 1957
Geburtsort	Griesbach/Rottal
Eltern	Johann Hölzl, Landwirt Berta Hölzl, geb. Hofbauer
Schulbildung	1964 - 1969 Volksschule Birnbach 1969 - 1978 Gymnasium Pfarrkirchen
Wehrdienst	1978 - 1979
Studium	1979 - 1985 Studium der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians Universität München
Approbation	22. 02. 1985

